STRUKTUR – WIRKUNGSBEZIEHUNGEN VON CHLORIERTEN METHANDERIVATEN

Claudia Wurster

1980

Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. A. Schmid

STRUKTUR-WIRKUNGSBEZIEHUNGEN VON CHLORIERTEN METHANDERIVATEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Claudia Wurster
aus
Landshut

München 1980

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. J. v. Sandersleben
1. Referent:	Prof. Dr. A. Schmid
2. Referent:	Prof. Dr. D. Giesecke
1. Korreferent:	Prof. Dr. H. Zucker
2. Korreferent:	Prof. Dr. E. Dahme
3. Korreferent:	Prof. Dr. G. Dirksen

Tag der Promotion: 25. Juli 1980

gedruckt bei Fa. H.-J. Köhler, Reprografischer Betrieb, 7400 Tübingen

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Meinen Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535726_0025

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	2
1.	Tetrachlormethan	2
1.1.	Vorkommen und Verwendung	2
1.2.	Chemische und physikalische Eigenschaften	3
1.3.	Stoffwechselverhalten	4
1.3.1.	Resorption	4
1.3.2.	Endogene Verteilung	4
1.3.3.	Metabolisierung	4
1.3.4.	Ausscheidung	7
1.4.	Toxikologische Eigenschaften	7
1.4.1.	Toxizität	7
1.4.2.	Biochemische Wirkungen	8
1.4.2.1.	Schädigung zellulärer und subzellulärer Strukturen	8
1.4.2.2.	Beeinflussung von Enzymaktivitäten	11
1.4.2.3.	Sonstige biochemische Wirkungen	12
1.4.3.	Klinische Wirkungen	12
1.4.4.	Pathologisch-anatomische Wirkungen	13
2.	Trichlormethan	13
2.1.	Vorkommen und Verwendung	13
2.2.	Chemische und physikalische Eigenschaften	14
2.3.	Stoffwechselverhalten	15
2.3.1.	Resorption und endogene Verteilung	15
2.3.2.	Metabolisierung	16
2.3.3.	Ausscheidung	18
2.4.	Toxikologische Eigenschaften	19
2.4.1.	Toxizität	19
2.4.2.	Biochemische Wirkungen	20
2.4.3.	Klinische Wirkungen	21
2.4.4.	Pathologisch-anatomische Wirkungen	22

		Seite
3.	Dichlormethan	22
3.1.	Vorkommen und Verwendung	22
3.2.	Chemische und physikalische Eigenschaften	23
3.3.	Stoffwechselverhalten	23
3.3.1.	Resorption	23
3.3.2.	Endogene Verteilung	24
3.3.3.	Metabolisierung	25
3.3.4.	Ausscheidung	26
3.4.	Toxikologische Eigenschaften	27
3.4.1.	Toxizität	27
3.4.2.	Biochemische Wirkungen	28
3.4.3.	Klinische Wirkungen	28
3.4.4.	Pathologisch-anatomische Wirkungen	29
4.	Monochlormethan	29
4.1.	Vorkommen und Verwendung	29
4.2.	Chemische und physikalische Eigenschaften	30
4.3.	Stoffwechselverhalten	30
4.3.1.	Resorption und endogene Verteilung	30
4.3.2.	Metabolisierung	31
4.3.3.	Ausscheidung	31
4.4.	Toxikologische Eigenschaften	32
4.4.1.	Toxizität	32
4.4.2.	Klinische Wirkungen	32
4.4.3.	Pathologisch-anatomische Wirkungen	32
III.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	33
1.	Problemstellung	33
2.	Versuchsplan	33
3.	Untersuchungsmethodik	35
3.1.	Versuchstiere, Versuchstierhaltung und -fütterung	35
3.2.	Gewinnung der Exspirationsluft	37
3.3.	Versuchsdurchführung	37
3.4.	Kohlenwasserstoffbestimmung in der Exspirationsluft	38

		Seite
3.4.1.	Chemikalien und Referenzgase	38
3.4.2.	Gaschromatographische Analyse	39
4.	Versuchsauswertung	39
4.1.	Qualitative Auswertung	39
4.2.	Quantitative Auswertung	40
4.2.1.	Eichkurven	40
4.2.2.	Berechnung der Fremdstoffexspiration	44
5.	Ergebnisse	44
5.1	Kontrollversuche	44
5.2.	Testversuche mit Tetrachlormethan	45
5.3.	Testversuche mit Trichlormethan	50
5.4.	Testversuche mit Dichlormethan	54
5.5.	Testversuche mit Monochlormethan	58
5.6.	Statistische Auswertung	59
IV.	DISKUSSION	60
V.	ZUSAMMENFASSUNG - SUMMARY	65
VI.	LITERATURVERZEICHNIS	67

I. EINLEITUNG

Die Lebertoxizität stark halogenierter Alkane ist erstmals von Butler im Jahre 1961 mit einer intermediären Radikalbildung durch homolytische Halogenabspaltung erklärt worden. Kurze Zeit später wurde diese Hypothese von Wirtschafter und Cronyn (1964) auf unsubstituierte Kohlenwasserstoffe ausgedehnt und dahingehend modifiziert, daß die Radikalbildung beider Stoffgruppen nicht durch monomolekulare Homolyse, sondern eine bimolekulare Reaktion mit körpereigenen freien Radikalen zustande komme, deren Konzentration von Commoner et al. (1954) mit etwa 10^{-8} mol/g Trockengewebe angegeben wird. Die Bedeutung dieser Modifikation besteht u.a. darin, daß bei einem bimolekularen Reaktionsmechanismus exergonische Teilreaktionen ablaufen können, durch welche die Radikalbildung der Kohlenwasserstoffe und der Halogen-Kohlenwasserstoffe erleichtert wird (Wirtschafter und Cronyn 1964).

Inzwischen ist durch zahlreiche Arbeiten belegt, daß die hepatotoxische Wirkung von hochsubstituierten Alkylhalogeniden, z.B. von Tetrachlorkohlenstoff oder Brom-trichlormethan, mit ihrer metabolischen Umwandlung in reaktionsfähige Radikale korreliert ist (Burdino et al. 1973; Recknagel und Glende 1973; Sagai und Tappel 1979; Slater 1966), so daß zunächst der von Butler (1961) postulierte radikalische Wirkungsmechanismus als bestätigt gelten darf. Die Frage ist jedoch, ob dieser Mechanismus auch für n i e d r i g halogenierte Derivate relevant ist, deren Kohlenstoff-Wasserstoff- bzw. Kohlenstoff-Halogenbindungen stabiler sind infolge stärker ausgeprägter induktiver Effekte der Halogensubstituenten. Die Beantwortung dieser Frage ist schon beim Chloroform schwierig, wie die z. Tl. widersprüchlichen Arbeiten von Cawthorne et al. (1971), Klaassen und Plaa (1969), Koch et al. (1974), Reynolds und Yee (1968) sowie Sagai und Tappel (1979) ausweisen.

Aus diesem Grund sind Tetrachlormethan (Tetrachlorkohlenstoff), Trichlormethan (Chloroform), Dichlormethan (Methylenchlorid) und Monochlormethan (Methylchlorid) in eigenen Versuchen auf radikalbildende Eigenschaften in vivo untersucht worden.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Tetrachlormethan (Tetrachlorkohlenstoff)

1.1. Vorkommen und Verwendung

Tetrachlorkohlenstoff ist erstmals im Jahre 1849 dargestellt worden (Goodman und Gilman 1975). 1973 betrug die Weltproduktion 10^6 Tonnen (McConnel et al. 1975).

Mitte des 19ten Jahrhunderts ist Tetrachlorkohlenstoff zunächst als Inhalationsanästheticum und Trockenschampon verwendet worden (Goodman und Gilman 1975). Fröhner (1909) bezeichnet ihn als "... ungefährliches, weder brennbares noch explosibles Lösungsmittel für Fett, Wachs, Harz, Kautschuk etc. ..." und nimmt den "Chirosoter", eine Lösung von Wachs in Tetrachlorkohlenstoff zum aseptischen Überziehen der Hände bei Operationen, in seine Arzneimittellehre für Tierärzte auf. Von Steinmetzer (1949) wird Tetrachlorkohlenstoff bei den Desinfektionsmitteln des Verdauungskanals und als "relativ unschädliches" Anthelminticum gegen Leberegel, Magenbremsenlarven, Magen-, Spul-, Faden- und Hakenwürmer erwähnt. Heute findet Tetrachlorkohlenstoff ggf. noch in den Tropen zur Bekämpfung der schwer beherrschbaren Massenerkrankungen durch Hakenwürmer, vor allem der Gattung ancylostoma, Verwendung (Kuschinsky und Lüllmann 1974); alle weiteren Indikationen der Human- und Tiermedizin sind angesichts der hohen Toxizität der Verbindung entfallen, zumal bessere und sicherere Ersatzstoffe zur Verfügung stehen (Goodman und Gilman 1975).

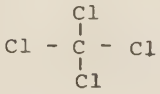
Die früher ebenfalls übliche Verwendung von Tetrachlorkohlenstoff als Feuerlöschmittel ist inzwischen verboten (Neumüller 1977). Maßgeblich dafür waren gleichfalls toxikologische, nicht technische Gründe, da die Verbindung flüchtig ist und die Dämpfe schwerer als Luft sind, Brandherde also infolge Sauerstoffverdrängung zu ersticken vermögen.

Auch als Ungezieferbekämpfungsmittel ist Tetrachlorkohlenstoff nicht mehr zugelassen (BGBl. I vom 31.5.74, S. 1204).

Der Hauptanteil der gegenwärtigen Tetrachlorkohlenstoffproduktion (ca. 80 %) dient der Herstellung organischer Chlorverbindungen, besonders von fluor- und chlorhaltigen Kälte- und Treibmitteln (Neumüller 1977). Ein weiteres Anwendungsgebiet ist die Verwendung als unbrennbares Lösungs- und Extraktionsmittel für Öle, Fette, Harze, Kautschuk, Nitrocellulose usw.. Aus diesem Grund findet sich Tetrachlorkohlenstoff auch in Fleckenwassern und wird zur chemischen Reinigung von Textilien sowie zur Metallentfettung gebraucht (Neumüller 1977).

1.2. Chemische und physikalische Eigenschaften

Tetrachlormethan entsteht bei vollständiger Chlorierung von Methan und hat deshalb die Summenformel CCl_4 sowie folgende Strukturformel:



Tetrachlormethan

Es ist eine klare, farblose, nicht brennfähige, süßlich riechende Flüssigkeit mit einem Molekulargewicht von 153,84 und einer Dichte (d_{25}^{25}) von 1,589. Der Siedepunkt liegt bei 76,7 °C, der Schmelzpunkt bei -23 °C (Windholz et al. 1976).

Tetrachlormethan hat infolge seiner Apolarität hydrophobe bzw. lipophile Eigenschaften und ist deshalb in Wasser nur sehr schwer löslich, in Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol, Benzin, sowie in ätherischen Ölen aber leicht löslich (Neumüller 1977). Bei Raumtemperatur ist Tetrachlorkohlenstoff ziemlich reaktionsträge, er wird weder von Basen, noch von Säuren angegriffen (Neumüller 1977).

1.3. Stoffwechselverhalten

1.3.1. Resorption

Tetrachlorkohlenstoffdämpfe werden über die Lungen, den allgemeinen Gasgesetzen folgend, sehr schnell resorbiert (Goodman und Gilman 1975).

Nach oraler Aufnahme passiert CCl_4 unverändert den Magen und wird in beschränktem Ausmaß langsam aus dem Darm resorbiert (Meyer Jones et al.1977). Die intestinale Resorption wird durch Fette, Öle und Alkohol gesteigert (Lamson et al. 1928; Goodman und Gilman 1975). Stewart und Dodd (1964) stellten auch eine Resorption toxischer Mengen über die Haut fest.

1.3.2. Endogene Verteilung

Nach subcutaner Injektion befinden sich im Blut durchschnittlich 0,005 - 0,1 % der verabreichten Dosis von Tetrachlorkohlenstoff, wobei die Erythrozyten ca. 2,5 mal mehr retinieren als das Plasma (Soucek 1961).

Leber, Lungen und Gehirn enthalten etwa dieselben Konzentrationen, das Fettgewebe aber 20 mal mehr als das Blut (Soucek 1961). Auch nach Inhalation ist Tetrachlormethan in der Leber sowie in anderen Geweben wie Gehirn, Knochenmark und Herz gefunden worden, wobei die Leber die höchsten Konzentrationen enthielt (von Oettingen 1964).

Zur Klärung des endogenen Verteilungsmusters wurde Ratten mittels Schlundsonde eine einmalige Dosis von 0,25 ml $^{14}CCl_4$ pro kg Körpermasse verabreicht. Ungefähr die Hälfte der in der Leber nachweisbaren Aktivität war in den Phospholipiden der Dünndarmmukosa vorhanden. Die Phospholipide der Nieren, Nebennieren und Lungen waren in geringem Ausmaß radioaktiv, während die Lipide von Milz, Hoden, Gehirn und Skelettmuskeln noch geringere Mengen radioaktiven Materials enthielten (Ciccoli et al. 1978). Aus der Tatsache, daß von den Lipiden die Phospholipide stärker betroffen waren, wurde geschlossen, daß die Membranlipide gegen den Angriff von Tetrachlormethan besonders empfindlich sind.

1.3.3. Metabolisierung

Bei Hunden und in Gewebehomogenaten, besonders der Leber, wird Tetrachlormethan zu Chloroform metabolisiert (Butler 1961).

Von Butler (1961) wurde erstmals auf die mögliche Bildung von Trichlormethylradikalen bei der biologischen Reduktion von Tetrachlorkohlenstoff hingewiesen und vermutet, daß solche Radikale viele der durch CCl_4 beobachteten Zellschäden verursachen könnten.

Tetrachlormethan bewirkt in den ersten 3 Stunden nach der Aufnahme Strukturveränderungen des endoplasmatischen Retikulums der Leber, dem Hauptort der Fremdstoffmetabolisierung (Recknagel 1967; Smuckler 1968).

Smuckler et al. (1967) und Sasame et al. (1968) beschrieben als erste den Abfall der Cytochrom P-450-Aktivität in der Mikrosomenfraktion der Leber nach Tetrachlormethan-Applikationen. Daraufhin ist in vielen Laboratorien demonstriert worden (McLean 1967a; Uehleke et al. 1970; Reiner und Uehleke 1971; Castro et al. 1972a), daß Tetrachlorkohlenstoff an Cytochrom P-450 gebunden wird, eine Tatsache, die zweifellos mit dem schnellen Abfall der Aktivität dieses Enzyms nach einer CCl_4- Belastung in Verbindung steht.

Schon früher wurde mehrfach beobachtet (Recknagel und Lombardi 1961; Neubert und Maibauer 1959; Klinger et al. 1968; Dingell und Heimberg 1968), daß nach Tetrachlorkohlenstoffbelastungen die Fremdstoffoxidationen in der Leber vermindert sind.

Tetrachlormethan bildet mit Cytochrom P-450 einen Enzym-Substrat-Komplex (McLean 1967b), wobei folgende Reaktion abläuft:

$$CCl_4 + e^- \longrightarrow CCl_3^{\cdot} + Cl^-$$

(Ullrich und Schnabel 1973).

Die Homolyse des Tetrachlorkohlenstoffs in den relativ apolaren Membranen des endoplasmatischen Retikulums kommt durch eine Wechselwirkung zwischen CCl_4 und einem freien Radikal des NADPH-Cytochrom P-450-Komplexes zustande (Slater 1972). Dabei führt ein Elektronen-Einfang-Prozess zur Bildung des Trichlormethyl-Radikals (Slater und Sawyer 1971b; Gregory 1966).

In Anwesenheit von Protonen kann anschließend Chloroform entstehen, das in CO_2 übergeführt wird (Bonse und Henschler 1976; Henschler 1979; Seawright und McLean 1967).

Neuere Untersuchungen (Packer et al. 1978) zeigen, daß das $CCl_3^{\cdot}$-Radikal nicht so reaktiv ist, wie ursprünglich angenommen wurde und daß stattdessen $CCl_3O_2^{\cdot}$ das reaktionsfähige Agens darstellt. Es wird durch sehr schnelle Umsetzung des Trichlormethyl-Radikals mit Sauerstoff gebildet. Die Untersuchungen bringen auch eine Erklärung des bisher nicht bekannten Mechanismus der Umwandlung von Tetrachlorkohlenstoff zu Kohlendioxyd. Offenbar wird das Peroxyd-Radikal $CCl_3O_2^{\cdot}$ zu Phosgen umgesetzt, welches anschließend zu CO_2 hydrolysiert wird.

Garner und McLean (1969) sahen bei Ratten nach Vorbehandlung mit Phenobarbital in vivo und in vitro eine erheblich schnellere Umwandlung von CCl_4 zu CO_2. Gleichzeitig war CCl_4 für diese Ratten deutlich giftiger. Auch daraus wurde auf einen Abbau des Tetrachlormethans durch Cytochrom P-450-abhängige mischfunktionelle Oxidasen (Monooxygenasen) im endoplasmatischen Retikulum der Leber geschlossen.

Die von Slater (1966) und Recknagel (1967) aufgestellte Hypothese, daß Tetrachlorkohlenstoff enzymatisch in einen aktiven Metaboliten, nämlich in ein Radikal umgewandelt werde, wird durch die Tatsache, daß Substanzen, die das hydroxylierende Enzymsystem und damit die Umwandlung von CCl_4 in CO_2 hemmen, eine Abschwächung der Tetrachlorkohlen-

stoff-Toxizität bewirken (Seawright und McLean 1967; McLean und McLean 1966; Garner und McLean 1969), bekräftigt.

Kleine Dosen von Tetrachlorkohlenstoff stellen ebenfalls einen Schutz vor nachfolgend verabreichten größeren Dosen desselben Lebergifts dar (Glende 1972). Da die Aktivität des Cytochrom P-450 nach Applikation der kleinen initialen Dosis abfällt, wird die weitere Metabolisierung gehemmt.

1.3.4. Ausscheidung

Die Hauptausscheidung des resorbierten Tetrachlorkohlenstoffs erfolgt pulmonal, wobei der größte Teil unverändert abgegeben wird (Rao und Recknagel 1968; Köster et al. 1977). Es wurden Anteile von mehr als 75 % (Paul und Rubinstein 1963), bzw. 90 $\pm$ 5 % (Soucek 1961) einer resorbierten Dosis gemessen. Der Rest wird als CO_2 abgeatmet (Goodman und Gilman 1975). Nach subcutaner Injektion von Tetrachlormethan bei Ratten werden in Urin und Faeces höchstens 0,01 % der applizierten Dosis ausgeschieden (Soucek 1961); gleichzeitige Zufuhr von Alkohol kann die Ausscheidung mit dem Urin allerdings erheblich vergrößern (Goodman und Gilman 1975).

1.4. Toxikologische Eigenschaften

1.4.1 Toxizität

Die orale LD_{50} von CCl_4 wird für Mäuse mit 12800 mg, für Ratten mit 7460 mg/kg Körpermasse angegeben (von Oettingen 1955). Wird Tetrachlorkohlenstoff eingeatmet, so beträgt die zu 50 % letale Konzentration für Ratten 150,5 mg/Liter Luft; der MAK-Wert ist auf 10 ppm festgesetzt (Commission for investigation of health 1979).

Die meisten Tierarten reagieren empfindlich auf Tetrachlormethan mit Leberschädigung.

Bemerkenswerte Ausnahmen stellen Hühner und andere Vögel dar, die enorm hohe Dosen dieses Lebergiftes unbeschadet überleben (Hall und Schillinger 1923; Cameron und Karunaratne 1936). Die Unempfindlichkeit von Hühnern gegenüber CCl_4 beruht auf deren Unfähigkeit, diese Substanz zu metabolisieren (Friedman et al. 1970).

Ein Vergleich unter anderen Spezies ergab, daß die durch CCl_4 hervorgerufene Lebernekrose, ebenso wie das Ausmaß der irreversiblen Bindung von ^{14}C des $^{14}CCl_4$ an Zellkomponenten, in der Reihenfolge Maus > Hamster > Meerschweinchen > Ratte > Huhn abnimmt, während die Intensität der durch Tetrachlormethan induzierten Lipid-Peroxidation in folgender Weise abfällt: Ratte > Hamster = Meerschweinchen > Huhn = Maus (Diaz Gómez et al. 1975).

1.4.2. Biochemische Wirkungen

1.4.2.1. Schädigung zellulärer und subzellulärer Strukturen

Die erste Beobachtung, die dafür sprach, daß Tetrachlormethan eine Lipid-Peroxidation verursacht, war die Minderung der letalen Wirkung dieser Substanz durch Fett-Antioxidantien (Di Luzio und Costales 1965; Gallagher 1962; Hove 1948).

Die bei der metabolischen Aktivierung von Tetrachlorkohlenstoff entstehenden freien Radikale führen zu einer Lipid-Peroxidation an den ungesättigten Fettsäuren von Membranlipiden (Recknagel 1967). Mikrosomale Membranen im besonderen, aber auch Mitochondrien- und Lysosomenmembranen, welche alle relativ hohe Anteile mehrfach ungesättigter Fettsäuren in ihren Phospholipiden haben (Slater 1972), verlieren ihre funktionale Integrität, sobald Lipid-Peroxidation auftritt (Plaa und Witschi 1976). Dies ist der Elementarmechanismus, der bei der Ausbildung akut toxischer Wirkungen an Leber und Niere nach Aufnahme von CCl_4 abläuft (Henschler 1977a).

Der Vorgang, der bei der durch Tetrachlormethan verursachten Lipid-Peroxidation abläuft, wurde von Slater (1972) ausführlich beschrieben: das Trichlormethylradikal entzieht einer ungesättigten Fettsäure Wasserstoff, wodurch ein freies Fettsäureradikal entsteht. Daraufhin führt eine Sauerstoffaufnahme zur Bildung eines Fettsäureperoxidradikals. Dieses Radikal reagiert mit einem weiteren ungesättigten Fettsäuremolekül, um ein freies Fettsäureradikal und ein ungesättigtes Hydroperoxid zu bilden.

Nicht alle Autoren stimmen jedoch mit der Ansicht überein, daß Lipid-Peroxidation das Schlüsselereignis ist, das bei einer Tetrachlorkohlenstoff-Belastung zu Lebernekrose führt (Castro et al. 1972b; 1973; McLean 1967a; Klaassen und Plaa 1967; Chopra et al. 1972). Vielmehr haben einige sogar in Frage gestellt, ob überhaupt eine Lipid-Peroxidation während Tetrachlorkohlenstoff-Belastung auftritt (Keller et al. 1971; Green et al. 1969; Green 1972).

Diese Gruppe von Forschern ist der Auffassung, daß die irreversible Bindung der Trichlormethyl- und Chlorradikale an Zellkomponenten das kritische Ereignis im Hinblick auf den Zelltod durch CCl_4 darstellt.

Zur Messung der Lipid-Peroxidation in vitro und in vivo sind verschiedene Methoden bekannt:
Die Bestimmung der Lipid-Peroxidation in vitro erfolgt durch a) die ESR-Technik (electron spin resonance), die den Paramagnetismus unpaariger Elektronen mißt (Haugaard 1968; Saprin und Piette 1977), b) durch die TBA-Reaktion, bei der Malondialdehyd, das beim Zerfall von Fettsäurehydroperoxiden entsteht und mit TBA (Thiobarbitursäure) ein rotes Pigment bildet, gemessen wird (Dillard und Tappel 1971, 1973; Plaa und Witschi 1976; Gutteridge und Stocks 1976) sowie c) mittels der Ultraviolett-Spektroskopie, wobei Gewebeextrakte auf die Anwesenheit konjugierter

Doppelbindungen untersucht werden (Dahle et al. 1962; Gutteridge und Stocks 1976). Darüber hinaus kann die manometrische Methode nach Warburg, welche die Sauerstoffabsorption mißt (Dillard und Tappel 1971, 1973) und die jodometrische Messung des Peroxidgehalts (Dahle et al. 1962) angewandt werden.

Zur Messung der Lipid-Peroxidation in vivo existiert die gaschromatographische Bestimmung von flüchtigen Kohlenwasserstoffen. Auf diese Methode soll näher eingegangen werden.

Nach Cohen et al. (1968); Hafeman und Hoekstra (1977); Köster et al. (1977) sowie Caroline A. Riely et al. (1974) ist die Äthanbildung in vivo ein Indikator für die Peroxidation von Membranlipiden. Dabei entstehen während der Spaltung von Fettsäurehydroperoxiden Kohlenwasserstoffe, die dann ausgeatmet werden (O'Brien 1969; Dumelin und Tappel 1977).

Die genannten Autoren demonstrierten als erste, daß Äthan von Tetrachlorkohlenstoff-behandelten Tieren abgeatmet wird. Dies wurde sowohl bei Ratten als auch bei Mäusen mehrfach beschrieben (Köster et al. 1977; Kappus et al. 1979; Cohen 1979; Kieczka et al. 1979; Hafeman und Hoekstra 1977; Lindström und Anders 1978).

Dabei stammt das in den einzelnen Versuchen bestimmte Äthan vorwiegend von peroxidierten Fetten der Lunge und der Leber (Caroline A. Riely et al. 1974; Köster et al. 1977).

Von peroxidierten tierischen Geweben stammen auch andere gesättigte Kohlenwasserstoffe wie Propan, Butan und Pentan (Kappus et al. 1979; Cohen 1979; Frank et al. 1978; Litov et al. 1978; Hintze und Remmer 1979).

Pentan ist, wie Äthan, ein Produkt der Lipid-Peroxidation in vivo und kann daher verläßlich als Indikator einer solchen angesehen werden (Downey et al. 1978).

Das Entstehen von Methan konnte nicht beobachtet werden (Cohen 1979). Frank und Bimboes (1979) identifizierten zusätzlich i-Pentan und i-Buten.

Äthan und Äthen entstehen aus peroxidierter Linolensäure (Lieberman und Mapson 1964; Dumelin und Tappel 1977), Pentan bei Oxidation von Linol- oder Arachidonsäure (Cora J. Dillard et al. 1976; Dumelin und Tappel 1977). Es markieren also spezifische Kohlenwasserstoffe den oxidativen Verderb spezifischer Fettsäuren (Cohen 1979; Hintze und Remmer 1979). Äthen wurde bisher hauptsächlich bei der Peroxidation pflanzlicher Gewebe (Früchte und Gemüse) gefunden (Cohen 1979).

1.4.2.2. Beeinflussung von Enzymaktivitäten

Die Transaminasen beginnen 3 Stunden nach CCl_4-Vergiftung im Serum anzusteigen (Elger et al. 1970).

Von den Enzymen, die im endoplasmatischen Reticulum verankert sind, bleiben nach Einwirkung von Tetrachlorkohlenstoff die Pseudocholinesterase, die NADPH-abhängige Cytochrom-c-Reduktase und das Cytochrom b_5 unverändert (Heni und Remmer 1971). Diese Enzyme sind auch ohne Bindung an die Phospholipide der Membranen voll funktionsfähig.

Dagegen werden die Glucose-6-Phosphatase (Reynolds und Yee 1968; Klaassen und Plaa 1969; Cawthorne et al. 1971; Recknagel und Lombardi 1961; Heni und Remmer 1971; Reiner et al. 1972) und die mischfunktionelle Hydroxylase Cytochrom P-450 (Smuckler et al. 1967; Sasame et al. 1968; Dingell und Heimberg 1968; Heni und Remmer 1971; Matkovics et al. 1978) von der schädigenden Wirkung des CCl_4 betroffen und verlieren dosisabhängig ihre Aktivität. Zweifellos setzt die Funktion des Cytochrom P-450 und auch die der Glucose-6-Phospatase eine Integrität der Phospholipidstrukturen, an denen sie haften, voraus. Wahrscheinlich ist nach Vergiftung durch Tetrachlorkohlenstoff die Reduktion des Cytochrom P-450 - derjenige Schritt der Hydroxylierung welcher die Reaktionsgeschwindigkeit bestimmt - am stärksten betroffen (Gigon et al. 1969).

1.4.2.3. Sonstige biochemische Wirkungen

Der Einbau von Aminosäuren in Proteine von isolierten Ribosomen sinkt schon in den ersten 2 Stunden nach einer CCl_4-Belastung (Smuckler 1968; Matkovics et al. 1978). Diese Hemmung des Aminosäureeinbaus ließ sich jedoch nicht reproduzieren, wenn Mikrosomen und NADPH mit CCl_4 vorinkubiert wurden und dann der Einbau mit Kontrollen verglichen wurde (Schnitger und Uehleke 1969).

Die Konzentrationen an Neutralfetten in der Leber steigen nach Tetrachlorkohlenstoff-Applikation an (Scholz und Recknagel 1960), und die Zunahme von Fettsäuren mit konjugierten Doppelbindungen als Folge der Lipid-Peroxidation erreicht schon nach 30 Minuten ihren Höhepunkt (Klaassen und Plaa 1969; Reynolds 1972).

Der Austritt von intrazellulärem Kalium aus Rattenhepatozyten nach Inkubation mit Tetrachlormethan erwies sich als zeit- und dosisabhängig (Stacey 1978).

1.4.3. Klinische Wirkungen

Das Einatmen von Tetrachlormethan-Dämpfen verursacht Kopfschmerzen, Übelkeit und Schwindelgefühle und kann zu schweren Schäden des zentralen Nervensystems mit unkoordinierten Bewegungen, mehrtägiger Taubheit und Herabsetzung der Sehschärfe führen; im Laufe von 12 - 24 Stunden wurde auch Kollaps durch Kreislaufversagen beobachtet (Meyer Jones et al. 1977).

Nach oraler Aufnahme von Tetrachlormethan treten infolge Anregung der Darmperistaltik starke Bauchschmerzen und Diarrhoe auf (Goodman und Gilman 1975).

Auf die Haut wirkt Tetrachlorkohlenstoff stark entfettend, wodurch sie sehr trocken und rissig wird und daher bakteriellen Infektionen leichten Zugang bietet (Neumüller 1977).

1.4.4. Pathologisch-anatomische Wirkungen

Als ausgeprägtes Zellgift mit Hauptwirkung auf Leber und Nieren ruft Tetrachlorkohlenstoff schwere Parenchymschäden hervor. Die auffälligsten Sektionsbefunde der Leber sind Nekrose der Leberzellen, besonders im Zentrum der Läppchen (Reynolds und Yee 1968) und fettige Degeneration des gesamten Organs (Recknagel und Glende 1973).

Sektionsbefunde der Niere nach CCl_4-Vergiftung sind Nekrose der Nierenepithelien, speziell der proximalen Tubulusabschnitte, sowie fettige Infiltration (Goodman und Gilman 1975).

Nach oraler Aufnahme von Tetrachlorkohlenstoff als Anthelmintikum wurde eine Enteritis, vor allem im Anfangsteil des Dünndarms beobachtet, nach der Einatmung von CCl_4-Dämpfen eine Pneumonie (Garner 1967).

2. Trichlormethan (Chloroform)

2.1 Vorkommen und Verwendung

Die Entdeckung von Chloroform geht auf Soubeiran 1831 zurück; davon unabhängig wurde es 1831 aber auch von Liebig synthetisiert. Den Namen Chloroform prägte 1834 J.B.A. Dumas. Die Narkosewirkung von Trichlormethan entdeckte 1847 der schottische Physiologe Sir J.Y. Simpson. Die Verwendung zur Narkose führte aber schon in den ersten Jahren zu Zwischenfällen (Snow 1858). Wegen seiner toxischen Wirkungen wurde Chloroform durch andere Anästhetika verdrängt.

Die Weltproduktion von Chloroform hat 1973 etwa 245 000 Tonnen betragen (McConnel et al. 1975). Davon wird der größte Teil weiterverarbeitet, der Rest für folgende Zwecke benutzt: Chloroform spielt als Extraktionsmittel und industrielles Lösungsmittel, bei der Herstellung von Farbstoffen, Arzneimitteln, ätherischen Ölen, Pestiziden,

Alkaloiden und bei photographischen Prozessen eine erhebliche Rolle. Ebenso wird es zum Entfernen von Gummirückständen, als Wärmeaustauscher (mit Dichlormethan), als Begasungsmittel und als Lösungsmittel für viele Arbeiten in chemischen Laboratorien verwendet (Uehleke 1978).

In geringen Konzentrationen (einige ppm) ist Trichlormethan in Nahrungsmitteln wie Fleisch, Getränken, Früchten und Gemüse enthalten; häufiger wird es noch in chloriertem Trinkwasser in Konzentrationen von 10-100 µg/l nachgewiesen (McConnel et al. 1975).

Im letzten Jahrhundert enthielten viele Hustensäfte Chloroform. Die ihm zugeschriebenen sekretolytischen und hustendämpfenden Wirkungen konnten jedoch nicht bestätigt werden (Renovanz 1974).

Als Geschmacksverstärker und -verbesserer setzt man Chloroform auch heute noch in Zahnpasten und in Mundwässern ein (Uehleke 1978).

2.2. Chemische und physikalische Eigenschaften

Trichlormethan (Chloroform) hat die Bruttoformel $CHCl_3$ und folgende Strukturformel:

Trichlormethan

Es ist eine klare, farblose, unbrennbare Flüssigkeit mit einem Molekulargewicht von 119,39 und einer Dichte (d_{20}^{20}) von 1,484 (Windholz et al. 1976).

Chloroform besitzt einen charakteristischen Geruch und einen süßen, brennenden Geschmack. Der Schmelzpunkt liegt bei -63,5, der Siedepunkt bei 61,7 °C (Windholz et al. 1976).

Trichlormethan ist in Wasser wenig löslich, in Alkohol, Äther, Benzin, Benzol, Aceton, Fetten und Ölen dagegen leicht löslich (Neumüller 1972).

Unter dem Einfluß von Licht und Sauerstoff geht Chloroform allmählich in Phosgen und Salzsäure über, man bewahrt es deshalb zweckmäßigerweise in braunen Flaschen auf und fügt als Oxidationsinhibitor Äthanol (bis 1 %) hinzu (Neumüller 1972).

2.3. Stoffwechselverhalten

2.3.1. Resorption und endogene Verteilung

Chloroform wird oral, pulmonal und auch über die Haut schnell resorbiert (Uehleke 1978). Es erfolgt eine ziemlich gleichmäßige Verteilung im ganzen Körper (Chenoweth et al. 1962; Hellekant 1964).

Nach Verabreichung von markiertem Chloroform geht die Radioaktivität eine irreversible und kovalente Bindung mit Proteinen und Lipiden der Leber ein, nicht aber mit Nucleinsäuren (Reynolds und Yee 1967).

Die Blutkonzentrationen nach 1-4stündiger Chloroformnarkose bei Patienten mit gesunder Leber betragen im Mittel 98 µg/ml. Nur zu Beginn der Narkose liegen die venösen Konzentrationen deutlich tiefer als die arteriellen. Nach Ende der Narkose fallen die Blutkonzentrationen mit einer Halbwertszeit von 50 - 70 Minuten steil ab (Smith et al. 1973).

Die Chloroformkinetik wird vom Fettanteil des Körpers beeinflußt, da die Substanz im Fettgewebe gelöst und gespeichert wird. Deshalb ist auch die Retentionszeit von Chloroform bei übergewichtigen Personen (oder Tieren) verlängert (Uehleke 1978).

2.3.2. Metabolisierung

Heppel und Porterfield (1948) beobachteten, daß aus Chloroform und anderen chlorierten Kohlenwasserstoffen durch Leberhomogenate Chlorid abgespalten wird. Später wurde der Abbau von Trichlormethan zu Kohlendioxyd erkannt (Butler 1961; Rubinstein und Kanics 1964; van Dyke 1969; McLean 1970) und daraus geschlossen, daß die toxischen Wirkungen von Trichlormethan auf die Leber durch toxische Metaboliten verursacht werden, deren Natur aber noch unbekannt war (Scholler 1970).

Während die reduktive Dehalogenierung von Tetrachlormethan anaerob schneller abläuft als aerob, erfolgt die Umwandlung von Chloroform zu CO_2 und auch die kovalente Bindung an Proteine und Lipide der Leber unter aeroben Bedingungen am schnellsten (Uehleke und Werner 1975). Die kovalente Bindung von Chloroform an Zellbestandteile ist bei neugeborenen oder sehr jungen Tieren viel geringer als bei erwachsenen (Uehleke und Werner 1975). Da die Konzentrationen an Cytochrom P-450 bei jungen Individuen viel niedriger sind als bei erwachsenen und da die Oxidation von Chloroform durch CO, den Hemmstoff dieses Enzyms, unterbunden wird, ist eine Beteiligung von mikrosomalem Cytochrom P-450 beim Abbau von Chloroform sicher (Uehleke 1978).

Chloroform wird jedoch, im Gegensatz zu Tetrachlorkohlenstoff, nicht an reduziertes Cytochrom P-450 gebunden (Reiner und Uehleke 1971).

Die Oxidation von Chloroform ist also eine typische mischfunktionelle Oxidation im endoplasmatischen Retikulum der Leber und auch anderer Organe. Dies bestätigen Untersuchungen mit Chloroform bei Ratten, die mit Phenobarbital vorbehandelt wurden. Sie zeigen, daß die

hepatotoxische Wirkung von Chloroform in direkter Beziehung zur Aktivität der mikrosomalen Enzyme steht, und daß umgekehrt Disulfiram, ein Enzyminhibitor beim Menschen und bei der Ratte, die Hepatotoxizität von Chloroform bei Ratten vollständig unterbindet (Scholler 1971, 1970; McLean 1970).

Hathway (1974) schreibt dem Chloroform eine geringere Toxizität als Tetrachlorkohlenstoff zu, weil die homolytische Spaltung der C-Cl-Bindung bei CCl_4 kinetisch mehr begünstigt ist als bei $CHCl_3$. Er hält die Chlor-Abspaltung aus Chloroform für den entscheidenden Schritt in der metabolischen Aktivierung dieser Substanz:

$$CHCl_3 + e^- \longrightarrow CHCl_2^{\cdot} + Cl^-$$

Andere Untersucher gehen davon aus, daß die homolytische Spaltung von Chloroform die C-H-Bindung betrifft (Slater 1972). Die Energie, die dafür gebraucht wird, ist aber größer als bei CCl_4. Deshalb geschieht die Bildung des Trichlormethylradikals aus Chloroform wesentlich langsamer als aus Tetrachlorkohlenstoff:

$$R^{\cdot} + CHCl_3 \longrightarrow RH + CCl_3^{\cdot}$$

(Slater 1972; Reynolds und Yee 1968).

Dagegen postulieren Docks und Krishna (1976) einen anderen Weg der Metabolisierung von Chloroform. Sie beschreiben, daß nur solche Dosen von Chloroform bei induzierten Ratten Lebernekrosen hervorrufen, welche die GSH-Konzentration der Leber herabsetzen. Der GSH-Verbrauch ist also eindeutig mit der Metabolisierung von Chloroform verknüpft.

In vitro wird die kovalente Bindung von Radioaktivität aus $^{14}CHCl_3$ an Lebermikrosomen von mit Phenobarbital stimulierten Ratten durch Cystein gehemmt (Pohl und Krishna 1977). Dabei wurde das radioaktive Produkt 2-Oxothiazolidin-4-carbonsäure gefunden (Mansuy et al. 1977; Pohl et al. 1977). Daraus geht hervor, daß Chloroform zu Phosgen umgewandelt wird, das kovalent an Proteine bindet, oder aber durch SH-Verbindungen, besonders Cystein, abgefangen wird und 2-Oxothiazolidin-4-carbonsäure bildet (Bhooshan et al. 1977).

Um die Verstoffwechselung von Chloroform zu Phosgen auch in vivo nachzuweisen, wurde Phenobarbital vorbehandelten Ratten zuerst Cystein und danach Chloroform verabreicht. Eine Stunde später wurden die Lebern auf Phosgen untersucht, welches in Gegenwart von Cystein als 2-Oxothiazolidin-4-carbonsäure abgefangen und gemessen werden konnte (Pohl et al. 1979).

Wenn die Oxidation von Chloroform in einer Atmosphäre von radioaktiv markiertem Sauerstoff stattfand, enthielt das abgefangene Phosgen Radioaktivität (Pohl et al. 1977). Damit wurde gezeigt, daß Chloroform zu Trichlormethanol oxidiert wird, welches dann spontan HCl abspaltet und Phosgen bildet.

2.3.3. Ausscheidung

Nach Chloroformnarkose schieden salzfrei ernährte Hunde im Urin vermehrt Chlorid aus (Kast 1887); 20 - 50 % des aufgenommenen Chloroforms waren bis zum Chlorid abgebaut worden.

Paul und Rubinstein (1963) stellten fest, daß Ratten nach Gaben von ^{14}C-markiertem Chloroform Kohlendioxyd ausatmen. Verbesserte Messungen ergaben, daß Mäuse mar-

kiertes Chloroform innerhalb von 48 Stunden zu 80 % als CO_2 exspirieren bzw. im Urin ausscheiden; bei Ratten war der Anteil 60 % (Brown et al. 1974).

Menschen atmeten von 500 mg oral gegebenem ^{13}C-markiertem Chloroform bis zu 50 % als CO_2 ab. Innerhalb von 8 Stunden wurden 18 - 66 % unverändertes Chloroform ausgeatmet (Fry et al. 1972).

2.4. Toxikologische Eigenschaften

2.4.1. Toxizität

Die akute Toxizität des Chloroforms ist von Tierart und Tierstamm sowie vom Alter und Geschlecht abhängig. Während die akute orale LD_{50} für erwachsene Sprague-Dawley-Ratten 1180 mg/kg betrug, lag sie für 15 Tage alte Tiere bei nur 440 mg/kg Körpermasse (Kimura et al. 1971). Die orale Toxizität von Chloroform nach einmaliger Applikation schwankte von 120 mg/kg bei männlichen DBA-Mäusen bis 490 mg/kg bei C57BL-Mäusen (Hill et al. 1975).

Die akute mittlere letale Dosis für Ratten und Mäuse bei oraler Verabreichung gibt Henschler (1977b) mit 0,3 - 1,0 ml/kg Körpermasse an.

Die chronische orale LD_{50} (über 10 Tage) beträgt für männliche Mäuse 0,08 und für weibliche Mäuse 0,33 ml/kg Körpermasse (Henschler 1977b).

Nach einmaliger Inhalation von 100 ppm $CHCl_3$ über 4 Stunden traten bei weiblichen Tieren schon Fettinfiltrationen in der Leber auf (Kylin et al. 1963), und die Belastung von Mäusen mit 1000 ppm für eine Stunde jeden 3. Tag tötete bereits nach 4 Wochen 25 % der Tiere (Siess et al. 1963).

Chloroform als Inhalationsanästhetikum hat eine außerordentlich geringe narkotische Breite (Kuschinsky und Lüllman 1974). Der MAK-Wert für Chloroform beträgt 10 ppm (Uehleke 1978).

2.4.2. Biochemische Wirkungen

Die intraperitoneale Injektion von 0,75 ml $CHCl_3$ pro kg Körpermasse an Hunde bewirkte 2 Tage nach der Applikation einen deutlichen Anstieg der Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminasen (SGPT) (Klaassen und Plaa 1967).

Bei Pferden waren nach Chloroform-Narkosen Leberenzyme wie die Sorbitoldehydrogenase und die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) im Serum auffallend erhöht (Thorpe et al. 1969). Stacey et al. (1978) beobachtete nach Inkubation von Rattenhepatozyten mit Chloroform erhöhte Werte der Alanin-Aminotransferase im Serum, ebenso einen Austritt von intrazellulärem Kalium.

Trichlormethan bewirkt einen Abfall der Aktivität der Glucose-6-Phosphatase in der Niere (Cawthorne et al. 1971).

Vitamin E und SH-Verbindungen wie Glutathion (GSH) sind Schutzfaktoren der Zellen gegen oxidative Angriffe.

Chloroformnarkose (0,5 bzw. 1,0 % über 2 Stunden) konnte bei Ratten die GSH-Konzentrationen in der Leber nicht verändern, jedoch sanken die Werte nach Vorbehandlung der Tiere mit Phenobarbital im Laufe von 18 Stunden um 70 - 80 % ab. Nach dieser Zeit waren 20 bzw. 80 % der Tiere gestorben (Brown et al. 1974).

12 Wochen alte Kälber erhielten mittels Schlundsonde eine nicht narkotische Dosis von 0,3 ml $CHCl_3$ pro kg Körpermasse. In den Lebern konnten sehr geringe Infiltrationen der zentrilobulären Bezirke gesehen werden, jedoch traten nach Vorbehandlung mit Phenobarbital bei der gleichen Dosis deutliche Lebernekrosen auf, und die Aktivität der Leberenzyme im Serum war stark erhöht (Gopinath und Ford 1973).

Die Verschiebung von Doppelbindungen ungesättigter Fettsäuren der Membranlipide (Dienkonjugation) stieg ebenfalls nur bei induzierten Tieren stark an; unter diesen Bedingungen wurde auch ein Abfall der Aktivität des Cytochrom P-450 gesehen (Brown et al. 1974).

Es ist also möglich, daß der Mechanismus der Leberschädigung durch Trichlormethan unter solchen "forcierten" Bedingungen ähnlich wie bei Tetrachlormethan abläuft, jedoch mit einer Phasenverschiebung hinsichtlich Lipid-Peroxidation und SH-Verminderung (Uehleke 1978). Reaktive Metaboliten des Chloroforms übernehmen scheinbar bevorzugt Elektronen von GSH und anderen SH-Verbindungen (Brown et al. 1974). Erst wenn die natürlichen Vorräte an SH-Verbindungen abnehmen, werden Doppelbindungen von ungesättigten Fettsäuren zu Elektronenlieferanten.

Obwohl vielfach beschrieben wurde, daß Trichlormethan die Lipid-Peroxidation nicht, oder nur viel weniger als Tetrachlorkohlenstoff in Gang setzt (Judah et al. 1970; Reiner et al. 1972; Recknagel und Glende 1973; Koch et al. 1973; Klaassen und Plaa 1969), konnte doch auch durch Trichlormethan, besonders an induzierten Tieren, oder an Zellen von induzierten Tieren, Lipid-Peroxidation beobachtet werden (Slater und Sawyer 1970, 1971a; Brown 1972).

Auch Chloroform kann also offenbar durch Radikalreaktionen Lebercytochrome und andere Enzyme alterieren und schließlich Membranen von Zellorganellen und die Zellmembranen schädigen (Uehleke 1978).

1.4.3. Klinische Wirkungen

Flüssiges Chloroform reizt empfindliche Gewebe, besonders die Konjunktiva, ebenso wie Chloroform-Dämpfe muköse Membranen schädigen (Meyer Jones et al. 1977).

Chloroform wirkt lähmend auf das Atemzentrum; bei Überdosierung tritt Atemstillstand ein. Am Herzen verursacht Chloroform Arrhythmien (Menzel 1970), Extrasystolen und ggf. totalen AV-Block (Briskorn et al. 1966).

Die Hepatotoxizität von Trichlormethan zeigt sich klinisch in einem Austritt von Leberenzymen in das Serum (Henschler 1979) und einer allgemeinen Störung der Enzymfunktion (Brown et al. 1974). Bei Untersuchung geeigneter Parameter (Protein-, Glucose- und Phenolsulfophthaleinausscheidung) findet sich nach Chloroform-Belastung auch eine, oft tiefgreifende Nierenfunktionsstörung (Klaassen und Plaa 1966).

2.4.4. Pathologisch-anatomische Wirkungen

Post mortem stellt sich die Leberschädigung durch Trichlormethan als zentrale Nekrose und fettige Degeneration der Leberlappen dar (Goodman und Gilman 1975). Fettige Degenerationen werden auch an Herz und Nieren beobachtet (Garner 1967).

3. Dichlormethan (Methylenchlorid)

3.1. Vorkommen und Verwendung

Ursprünglich war Dichlormethan unter der Bezeichnung "Solästhin" als Narkotikum im Handel (Hellwig 1922), heute wird es dafür nicht mehr verwendet (Schadow 1971). In der Chemie, Kunststoff- und Nahrungsmittelindustrie dient Dichlormethan als Lösungs- und Extraktionsmittel für Öle, Fette, Kautschuk und Kunststoffe; in Handwerk und Haushalt wird es zum Entfetten, Abbeizen, zur Fleckenreinigung und als Lösungsmittel für Farbverdünner benutzt (Neumüller 1974b).

Die Weltproduktion betrug 1973 400 000 Tonnen (McConnel et al. 1975).

Dichlormethan ist Lösungsmittel und Treibgaskomponente in Sprühdosen; auch zur Kaffeebohnen- und Hopfenextraktion wird es angewandt (Neumüller 1974b).

3.2. Physikalische und chemische Eigenschaften

Dichlormethan hat die Bruttoformel CH_2Cl_2 und folgende Strukturformel:

Dichlormethan

Es ist eine klare, farblose, nicht entzündliche Flüssigkeit.

Dichlormethan hat ein Molekulargewicht von 84,94 und seine Dichte (d_4^{20}) beträgt 1,3255; der Siedepunkt liegt bei 39,75 °C, der Gefrierpunkt bei -95 °C (Windholz et al. 1976). In Wasser ist Dichlormethan schwer, in Alkohol, Äther und Ölen dagegen leicht löslich (Neumüller 1974b).

3.3. Stoffwechselverhalten

3.3.1. Resorption

Aufgrund der hohen Flüchtigkeit von Dichlormethan ist seine Resorption über die Lunge der wichtigste Aufnahmeweg (DiVincenzo und Hamilton 1975; Peterson 1978; Laham et al. 1978). Die pulmonale Resorption von CH_2Cl_2 ist abhängig vom Atemminutenvolumen; die Sättigungsgeschwindigkeit des Blutes wird durch die Diffusionsrate von der Lunge ins Blut bestimmt (Schadow 1971).

Es besteht eine Beziehung zwischen Dichlormethanaufnahme und Körpergewicht. Schwere Versuchspersonen resorbieren absolut mehr CH_2Cl_2 als leichte, wobei die Aufnahmeunterschiede durch die unterschiedlichen Fettmengen zu erklären sind (Schadow 1971).

Auch eine percutane Resorption findet statt, da Dichlormethan nach Hautkontakt (Hand) in der Exspirationsluft von Versuchspersonen nachgewiesen wurde (Stewart und Dodd 1964).

3.3.2. Endogene Verteilung

Inhalierter Dichlormethandampf gelangt über die Lungen ins Blut und von hier in die Interzellulärflüssigkeit und die Fettdepots des Körpers (Schadow 1971), wo offenbar nur eine geringe Akkumulation stattzufinden scheint (DiVincenzo und Hamilton 1975). Die Radioaktivität diverser Rattengewebe nach der Verabreichung von markiertem Dichlormethan ist relativ niedrig. Sie beträgt etwa 3 % der applizierten Dosis nach 2 Stunden und weniger als 2 % der Dosis nach 24 Stunden. Gleichzeitig besteht aber eine gute Verteilung der Radioaktivität im Körper, wobei die höchsten spezifischen Aktivitäten in Leber, Nieren und Nebennieren enthalten sind (DiVincenzo und Hamilton 1975).

Bei Untersuchung der subzellulären Verteilung von ^{14}C-markiertem Dichlormethan in Leber- und Nierengeweben fand man gleiche Muster in beiden Organen. Die Radioaktivität befand sich in der säurelöslichen Fraktion, der Rohfettfraktion und der Proteinfraktion; sehr wenig Radioaktivität enthielten die Nucleinsäuren (Reynolds und Yee 1967; DiVincenzo und Hamilton 1975).

Nunes und Schoenborn (1973) untersuchten die Bindungsaffinität von Dichlormethan zu Hämoglobin und fanden, daß CO in Gegenwart von CH_2Cl_2 verstärkt an Hämoglobin gebunden wird.

3.3.3. Metabolisierung

Heppel und Porterfield (1948) zeigten, daß Dichlormethan in Gewebeextrakten zu Formaldehyd (HCHO), Wasserstoff und Chlorid umgesetzt wird. Reynolds und Yee (1967) untersuchten die Verteilungsmuster von ^{14}C-Dichlormethan in der Rattenleber und entdeckten, daß diese für CH_2Cl_2 und HCHO gleich sind. Neuere Untersuchungen ergaben jedoch, daß eine direkte Umwandlung von Dichlormethan zu Formaldehyd in vivo nicht stattfindet (DiVincenzo und Hamilton 1975).

Stewart et al. (1972) berichteten zuerst, daß das Einatmen von Dichlormethandämpfen eine zunehmende Sättigung des Blutes mit Kohlenmonoxid nach sich zieht. Sie stellten die These auf, daß Dichlormethan zu Kohlenmonoxid metabolisiert wird. Seither wurde dies mehrfach bestätigt (Fodor et al. 1973; Kubic et al. 1974; Ratney et al. 1974; DiVincenzo und Hamilton 1975; Kubic und Anders 1975; Peterson 1978; Laham et al. 1978). Auch Henschler (1979) gibt an, daß der Stoffwechsel von Dichlormethan über einige instabile Zwischenstufen (chloriertes Methanol, chlorierter Formaldehyd) zum Kohlenmonoxid führt.

Die Metabolisierungsreaktionen, welche zur Bildung von Formaldehyd bzw. Kohlenmonoxid führen sind noch nicht endgültig geklärt. Sie scheinen nicht über Dichlormethanradikale zu laufen, da die kovalenten Bindungen des Moleküls relativ stabil sind (Reynolds 1972; Ugazio et al. 1973). Es konnten auch keine flüchtigen Kohlenwasserstoffe nachgewiesen werden (DiVincenzo und Hamilton 1975), wie sie in Gegenwart freier Radikale aus Membranlipiden entstehen.

Die CO-Bildung aus Dichlormethan scheint von mikrosomalen Monooxygenasen besorgt zu werden (Kubic und Anders 1975). Da Kohlenmonoxid jedoch das wichtigste dieser Enzyme - Cytochrom P-450 - hemmt, kommt die Meta-

bolisierung schließlich zum Stillstand. Deshalb werden in vivo auch bei hoher Dichlormethanbelastung keine tödlichen CO-Hämoglobinkonzentrationen im Blut gefunden (Henschler 1979).

Die Eigenhemmung der CO-Bildung aus Dichlormethan erklärt möglicherweise auch, weshalb Versuche zur Stimulierung dieser Metabolisierungsreaktion via Enzyminduktion bei Menschen (Peterson 1978) und Ratten (Kubic et al. 1974) weitgehend negativ verlaufen sind. Lediglich die wiederholte Gabe von Dichlormethan selbst soll höhere Carboxyhämoglobinspiegel bei Ratten verursacht haben als eine Einzeldosis (Kubic et al. 1974).

3.3.4. Ausscheidung

Nach der Verabreichung von $^{14}CH_2Cl_2$ erfolgt die Ausscheidung der Radioaktivität bei Ratten hauptsächlich über die Lungen. Mehr als 75 % der Dosis wurden während der ersten 2 Stunden und 98 % im Laufe von 24 Stunden pulmonal eliminiert (DiVincenzo und Hamilton 1975). Dabei war die in der Atemluft gemessene Radioaktivität nach 2 Stunden zu 98,8 %, nach 8 Stunden zu 96 % und nach 24 Stunden zu 93 % unverändertem CH_2Cl_2 zuzuordnen (DiVincenzo und Hamilton 1975). Dies deckt sich mit Befunden von Schadow (1971), der bei einstündiger Exposition von Ratten in 4 Stunden etwa 80 % der aufgenommenen CH_2Cl_2-Dosis unverändert in der Atemluft nachweisen konnte. Versuche mit Menschen erbrachten vergleichbare Ergebnisse (DiVincenzo et al. 1972).

Neben unverändertem $^{14}CH_2Cl_2$ konnten in der Exspirationsluft von Ratten nach Verabreichung der markierten Verbindung noch ^{14}CO, $^{14}CO_2$ und ein nicht charakterisierter Metabolit bestimmt werden (DiVincenzo und Hamilton 1975).

Im selben Versuch betrug die im Urin gemessene Radioaktivität nach 24 Stunden 1 % der applizierten Dosis, in den Faeces konnte nach 2 sowie nach 8 Stunden keine, nach 24 Stunden weniger als 0,1 % der verabreichten Radioaktivität festgestellt werden. Schadow (1971) beobachtet bis zu 24 Stunden nach einer 6stündigen Exposition in 500 ppm Dichlormethan Spuren von CH_2Cl_2 in der Atemluft von Versuchspersonen. Er schrieb die langsame Ausscheidung der großen Affinität dieser Substanz zu den Lipiden des Fettgewebes zu.

3.4. Toxikologische Eigenschaften

3.4.1. Toxizität

Die akute intraperitoneale LD_{50} von CH_2Cl_2 für Hunde beträgt 0,95 ml/kg Körpermasse (Klaassen und Plaa 1967) und für Mäuse 1,5 ml/kg Körpermasse (Klaassen und Plaa 1966).

Die akute orale LD_{50} wird für männliche Ratten mit 1,72 ml/kg Körpermasse, für weibliche Ratten mit 1,06 ml/kg Körpermasse angegeben (Laham et al. 1978). Kimura et al. (1971) errechneten für 14 Tage alte Sprague-Dawley Ratten eine orale LD_{50} von 1,8 ml/kg Körpermasse, für junge ausgewachsene Ratten 1,6 und für ältere ausgewachsene Ratten 2,3 ml/kg Körpermasse. Die zu 50 % letale Konzentration in der Atemluft ist für weibliche und männliche Ratten gleich und beträgt 18 100 ppm (Laham et al. 1978).

Die maximale Arbeitsplatz-Konzentration (MAK) beträgt für Dichlormethan 200 ppm (Commission for investigation of health hazards 1979). Ratney et al. (1974) befürworteten die Herabsetzung des MAK-Wertes auf 75 - 100 ppm, um eine Belastung des Organismus mit Kohlenmonoxid-Hämoglobin zu vermeiden, welche die erlaubte Grenzkonzentration für eine CO-Belastung überschreitet.

3.4.2. Biochemische Wirkungen

Als wichtigste biochemische Schadwirkung von Dichlormethan gilt die Erhöhung des Kohlenmonoxid-Hämoglobin-Spiegels im Blut (Laham et al. 1978).

Bei einer einzelnen intraperitonealen Dichlormethanbelastung beträgt die Effektivdosis mit 50 %iger Maximalwirkung für eine Erhöhung der SGPT-Aktivität von Hunden 0,6 ml/kg Körpermasse (Klaassen und Plaa 1967). Mäuse sind offenbar unempfindlicher (Klaassen und Plaa 1966).

Reynolds (1972) verneint einen toxischen Effekt des Dichlormethans auf die Zusammensetzung und Funktion des endoplasmatischen Retikulums der Leber.

In Leberlipiden von Ratten ließen sich keine CH_2Cl_2-Metaboliten feststellen (Reynolds und Yee 1967).

Ebenso konnte durch Dichlormethan weder die Glucose-6-Phosphatase-Aktivität beeinflußt, noch der Einstrom von Calcium in Leberparenchymzellen bewirkt werden, beides Phänomene, die bei hepatotoxischen Substanzen auftreten (Reynolds und Yee 1968).

3.4.3. Klinische Wirkungen

Von großer diagnostischer Bedeutung ist der erhebliche Anstieg des Kohlenmonoxid-Hämoglobin-Spiegels, wie er sowohl nach einer Inhalation als auch Ingestion von CH_2Cl_2 zu beobachten ist (Peterson 1978).

Dichlormethan verursacht bei Hautkontakt - neben einer starken Entfettung - Läsionen, welche an Verbrennungen erinnern (Borbely 1961).

Nach der Inhalation toxischer Dosen steht eine Depression des ZNS mit Narkose im Vordergrund (Laham et al. 1978; Henschler 1979).

Bei akuter oraler Dichlormethanvergiftung bestehen die zusätzlichen Vergiftungssymptome in Blutdruckabfall und

Abnahme der Körpertemperatur (Laham et al. 1978) infolge Lähmung vegetativer Zentren im Hirnstamm. Eine spezifische Leber- und Nierenschädigung ist dagegen nicht bekannt (Henschler 1979).

3.4.4. Pathologisch-anatomische Wirkungen

Nach oraler Aufnahme von Dichlormethan wurden tiefgreifende Gefäßveränderungen und gastro-intestinale Hämorrhagien gesehen (Laham et al. 1978).

Bei Verabreichung von nahezu letalen Dosen wurden als histo-pathologische Veränderungen mäßige, neutrophile Infiltrationen in den Leberläppchen und um die Portalgefäße der Lebern von Hunden beobachtet, jedoch keine Nekrose (Klaassen und Plaa 1967).

Nach letalen Dosen konnten bei Mäusen histologische Veränderungen in der Niere in Form wässriger Degenerationen und geringgradige Nekrose in den gewundenen Tubulusabschnitten festgestellt werden (Klaassen und Plaa 1966).

4. Monochlormethan (Methylchlorid)

4.1. Vorkommen und Verwendung

In der Medizin diente Monochlormethan als Lokalanästhetikum (Neumüller 1974a). Es erzeugt bei Verdunstung auf der Haut anaesthesierende Kälte. Auch als Insektizid fand Monochlormethan Anwendung (Soucek 1961), und zusammen mit Tetrachlorkohlenstoff war es früher in kleineren Feuerlöschapparaten anzutreffen (Soucek 1961). Inzwischen ist Methylchlorid durch weniger giftige Substanzen ersetzt.

Heute dient Monochlormethan in der chemischen Industrie als Methylierungs- und Chlorierungsmittel und wird außerdem bei der Herstellung von Siliconen, Cellulose- und Phenoläthern sowie Farbstoffen verwendet (Neumüller 1974a). Auch zum Aufschäumen von Polystyrol gebraucht man Monochlormethan (Neumüller 1974a).

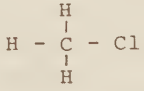
Die Weltproduktion betrug 1973 350 000 Tonnen (McConnel et al. 1975).

4.2. Chemische und physikalische Eigenschaften

Monochlormethan ist ein farbloses, ätherisch riechendes Gas. Sein Molekulargewicht beträgt 50,49; sein Schmelzpunkt liegt bei - 97 °C, der Siedepunkt bei - 23,7 °C (Windholz et al. 1976).

In Wasser ist Monochlormethan wenig, in Alkohol gut löslich (Neumüller 1974).

Es brennt mit rauchiger Flamme (Windholz et al. 1976). Monochlormethan hat die Summenformel CH_3Cl und folgende Strukturformel:



Monochlormethan

4.3. Stoffwechselverhalten

4.3.1. Resorption und endogene Verteilung

Wie andere Gase und Dämpfe wird Monochlormethan pulmonal sehr gut resorbiert (Soucek 1961). Die Lungen sind der wichtigste Ingestionsweg für Methylchlorid, obwohl auch eine dermale Resorption bekannt ist (Rossoff 1974).

Versuche, bei denen bereits 2 Minuten nach subcutaner Verabreichung von Monochlormethan an Ratten das Konzentrationsmaximum im Blut erreicht wurde, zeigen, wie schnell die Resorption erfolgt (Soucek 1961). Dabei war die Konzentration im Blut vergleichsweise 10-100 mal höher als bei Tetrachlorkohlenstoff.

Daß Methylchlorid in Fettgeweben abgelagert wird, gilt aufgrund seines niedrigen Siedepunktes sowie seiner geringen Lipidlöslichkeit, welche rund 20 mal schlechter ist als bei CCl_4, (Lehmann und Schmidt-Kehl 1936) als unwahrscheinlich (Soucek 1961).

4.3.2. Metabolisierung

Die chemische Reaktionsfähigkeit von Methylchlorid ist 160 mal höher als bei Tetrachlorkohlenstoff (von Oettingen et al. 1950); es kann also mit einer schnellen Metabolisierung gerechnet werden.

Untersuchungen über die Ausscheidung des Monochlormethans ergaben, daß etwa 70 % der an Ratten verabreichten Menge metabolisch umgewandelt werden müssen (Soucek 1961). Andere Untersucher geben aufgrund ihrer Versuche mit Hunden sogar 75 - 80 % an (Sperling et al. 1950). Der Abbaumechanismus war diesen Untersuchern jedoch nicht bekannt.

Die Annahme, daß nach Zerfall des Monochlormethans in 2 Komponenten die Methylgruppe zu Methylalkohol und weiter zu Formaldehyd und Ameisensäure oxidiert würde, war Anlaß zu Versuchen. Methylalkohol konnte jedoch im Blut nicht nachgewiesen werden, und eine erhöhte Ausscheidung von Ameisensäure nach Methylchloridexposition wird ebenfalls verneint (Smith 1947).

Trotzdem gibt Henschler (1979) die Metabolisierung von Monochlormethan auf folgende Weise an:

Er unterstellt also einen Abbau zu Formaldehyd und Ameisensäure. Diese Umwandlung soll auch in den Zellen des zentralen Nervensystems erfolgen können.

4.3.3. Ausscheidung

Monochlormethan wird aus dem Organismus der Ratte zu 27 % einer subcutan verabreichten Dosis pulmonal ausgeschieden (Soucek 1961).

Die Abatmung erfolgt extrem schnell. Sie ist bereits 2 Stunden nach der Applikation beendet.

In Harn und Faeces war Methylchlorid im Laufe von 24 Stunden post applicationem nicht, auch nicht in Spuren, nachzuweisen (Soucek 1961).

4.4. Toxikologische Eigenschaften

4.4.1. Toxizität

Die letale Methylchloridkonzentration für Mäuse in der Atemluft beträgt 3150 ppm (Windholz et al. 1976).

Der MAK-Wert ist auf 50 ppm festgelegt (Commission for investigation of health hazards 1979).

4.4.2. Klinische Wirkungen

Bei längerem Einatmen können Sehstörungen und Schlafsucht auftreten; Kaltblüter werden in Vollnarkose versetzt (Neumüller 1974a).

4.4.3. Pathologisch-anatomische Wirkungen

Das Leitsymptom bei akuter Vergiftung mit Monochlormethan ist eine Degeneration des ZNS. Analog zu den Befunden bei einer Methylalkoholvergiftung steht die Schädigung des Zwischen- und Großhirns im Vordergrund (Henschler 1979).

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Problemstellung

Problemstellung der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung von Tetra-, Tri-, Di- und Monochlormethan auf radikalbildende Eigenschaften in vivo.

Hierzu ist die Exspirationsluft von Versuchstieren wie von Rieley et al. (1974) angegeben nach Applikation der Chlormethanderivate auf flüchtige Kohlenwasserstoffe analysiert worden, welche als Zerfallsprodukte radikalgeschädigter Membranlipide (Peroxidbildung) anfallen (Cohen 1978; dort weitere Literatur).

2. Versuchsplan

Die Anlage der durchgeführten Untersuchungen geht aus folgender Übersicht hervor.

Tab. 1: Bestimmungshäufigkeit der Exspirationsluft als Funktion von Dosis und Meßzeitpunkt

Chlormethanderivat	Dosis (mg/kg)	Zeit post applicationem (min)			
		45	90	135	180
Tetrachlormethan (Tetrachlorkohlenstoff)	500	2	2	1	2
	1000	2	2	2	2
	1500	2	2	2	2
	2000	2	2	2	2
	2500	1	1	2	2

Fortsetzung von Tabelle 1

Chlor-methan-derivat	Dosis (mg/kg)	Zeit post applicationem (min)			
		45	90	135	180
Tri-chlor-methan (Chloro-form)	80	1	1	1	1
	120	1	1	1	1
	160	5	5	5	4
	200	1	1	1	1
	240	1	1	1	1
Di-chlor-methan (Me-thylen-chlorid)	1	1	1	3	3
	2	1	3	3	3
	4	1	2	2	3
	8	1	4	3	3
	16	2	2	2	2
			60	120	180
Mono-chlor-methan (Methyl-chlorid)	56		1	1	1
	169		1	1	1
	283		1	1	1

3. Untersuchungsmethodik

3.1. Versuchstiere, Versuchstierhaltung und -fütterung

Als Versuchstiere dienten konventionell gehaltene männliche und weibliche weiße Mäuse aus der Zucht des Institutes mit einer Körpermasse von durchschnittlich 35 g.

Die Tiere erhielten bis zum Versuchsbeginn die Haltungsdiät für Mäuse und Ratten Nr. 1320 der Fa. ALTROMIN GmbH, Lage/Lippe, und aqua font. ad libitum.

Das Futter hatte folgende Zusammensetzung bzw. Eigenschaften (Herstellerangaben):

Umsetzbare Energie	13000 kJ/kg

Rohnährstoffe (Masse% in der Diät)

Rohprotein	19,0
Rohfett	4,0
Rohfaser	6,0
Asche	7,0
Wasser	13,5
N-freie Extraktstoffe	50,5

Mineralstoffe (Masse% in der Diät)

Calcium	0,9
Phosphor	0,7
Magnesium	0,2
Natrium	0,2

Vitaminzusätze (mg/kg Diät, wenn nicht anders angegeben)

Vit. A	15 000 I.E.
Vit. D_3	600 I.E.
Vit. E	75
Vit. K_3	18

Vit. B_1	18
Vit. B_2	12
Vit. B_6	9
Vit. B_{12}	24 mcg
Nikotinsäure	36
Pantothensäure	21
Folsäure	2
Biotin	60 mcg
Cholin	600
Vit. C	36

Aminosäuren (Masse% in der Diät)

Lysin	0,9
Methionin und Cystin	0,6
Phenylalanin und Tyrosin	1,4
Arginin	1,1
Histidin	0,4
Tryptophan	0,2
Threonin	0,6
Isoleucin	0,9
Leucin	1,3
Valin	0,9

Spurenelemente (mg/kg Diät)

Mangan	75,0
Eisen	135,0
Kupfer	13,0
Zink	70,0
Jod	0,9
Fluor	9,0

3.2. Gewinnung der Exspirationsluft

Zur Gewinnung der Exspirationsluft der Versuchstiere diente ein Glas-Exsikkator mit einem Leervolumen von 855 ml. Der Exsikkator wurde über ein Sperrventil mit hochgereinigtem Sauerstoff (99,99995 Vol% O_2; LINDE, Unterschleißheim) bei druckloser Zufuhr versorgt.

Zur CO_2-Absorption wurde der Exsikkator mit 100 g Atemkalk (DRÄGER-Werke, Lübeck) beschickt, wobei das Gasvolumen im Exsikkator wegen kontinuierlichen O_2-Ersatzes konstant blieb.

Die Entnahme der Luftproben erfolgte mit einer HAMILTON-Gasspritze.

3.3. Versuchsdurchführung

Tetrachlormethan, Trichlormethan und Dichlormethan wurden in Olivenöl gelöst. Das Applikationsvolumen betrug 5 ml/kg Körpermasse.

Monochlormethan wurde als Gas appliziert.

Jede Versuchsgruppe bestand aus zwei männlichen und zwei weiblichen Mäusen.

Die Tiere wurden gewogen, anschließend erfolgte die intraperitoneale Injektion der Substanzlösung, bzw. des Gases. Unmittelbar danach wurden die Tiere in den Exsikkator verbracht, wo sie auf einem Drahtnetz über dem Atemkalk saßen.

Das Nettovolumen des Exsikkators betrug ca. 615 ml. Vor Versuchsbeginn erfolgte eine 5-minütige Spülung von Exsikkator inclusive Versuchstieren mit Sauerstoff. Dann wurde der Behälter gasdicht verschlossen und die Verbindung zum Sauerstoffversorgungssystem hergestellt (Versuchszeitpunkt 0).

Zur Gasentnahme wurde die Nadel der leeren Gasspritze durch ein Silikongummiseptum in den Exsikkator eingeführt

und der Spritzenstempel mehrfach hin und her bewegt. Schließlich wurden etwas mehr als 5 ml Gas entnommen und unmittelbar vor der Analyse auf die 5 ml-Markierung der Spritze eingestellt.

3.4. Kohlenwasserstoffbestimmung in der Exspirationsluft

Die Kohlenwasserstoffbestimmung in der Exspirationsluft erfolgte gaschromatographisch.

3.4.1. Chemikalien und Referenzgase

Dabei fanden folgende Reagenzien Verwendung:

a) Tetrachlorkohlenstoff (CCl_4) zur Analyse
MERCK, Darmstadt

b) Chloroform ($CHCl_3$) zur Analyse
MERCK, Darmstadt

c) Dichlormethan (CH_2Cl_2) zur Analyse
MERCK, Darmstadt

d) Methylchlorid (CH_3Cl) Laborgas
MERCK-SCHUCHARDT, Hohenbrunn

e) Olivenöl DAB 7
LORENZ, Hilden/Rhld.

f) Methanol (CH_3OH) zur Rückstandsanalyse
MERCK, Darmstadt

g) Äthen (C_2H_4), Propen (C_3H_6), cis-2-Buten und trans-2-Buten (C_4H_8), je 100 vpm, Prüfgas
LINDE AG, Unterschleißheim

h) Äthan (C_2H_6), 1 vpm, Prüfgas
LINDE AG, Unterschleißheim

i) Dräger-Sorb 650, CH 508
DRÄGER, Lübeck

3.4.2. Gaschromatographische Analyse

Die Bestimmung der flüchtigen Kohlenwasserstoffe in der Exsikkatorluft erfolgte mit einem Gaschromatographen der Fa. HEWLETT PACKARD (HP 5830 A) unter Verwendung eines Flammenionisationsdetektors. Als Trennsäule diente eine 6 Fuß lange Stahlsäule mit einer Füllung von Porapak Q der Korngröße 80-100 mesh. Die Arbeitstemperaturen betrugen beim Einspritzblock 150, der Säule 100 bzw. 120 (bei Dichlormethan) und beim Detektor 200 °C.

Als Trägergas diente nachgereinigter Stickstoff (LINDE AG, Unterschleißheim) mit einer Durchflußgeschwindigkeit von 40 ml/min.

Die Kohlenwasserstoffe der Gasproben wurden als Peaks ausgedruckt, deren Fläche als Konzentrationsparameter zur Auswertung kam.

4. Versuchsauswertung

Die Chromatogramme der Exsikkatorgase sind qualitativ und quantitativ ausgewertet worden.

4.1. Qualitative Auswertung

Ziel der qualitativen Versuchsauswertung war die Bestimmung der von den applizierten Chlormethanderivaten induzierten Fremdstoffe in der Exspirationsluft der Versuchstiere. Dazu sind die Gaschromatogramme von unbehandelten Kontroll- und behandelten Testgruppen verglichen und d o s i s a b h ä n g i g e Zusatzpeaks bei den Test-

gruppen mit Hilfe von Referenzsubstanzen anhand von Retentionszeit und "Spiking" (Peakflächenvergrößerung durch die Referenzsubstanz) identifiziert worden.

4.2. Quantitative Auswertung

4.2.1. Eichkurven

Die quantitative Versuchsauswertung erfolgte mit Hilfe von Eichkurven unter Verwendung der einschlägigen Referenzsubstanzen. Dabei ergab sich bei allen Substanzen ein linearer Zusammenhang zwischen Peakfläche und Konzentration in der Gasprobe, der durch Regressionsgleichungen der allgemeinen Form

$$F = aC + b \quad (FE)$$

mit a, b: Konstanten (substanzspezifisch)
C: Fremdstoffkonzentration (vpm)
F: Peakfläche (FE)
FE: Flächeneinheiten (gerätespezifisch)

beschrieben werden konnte. Die aus den Meßwerten berechneten stoffspezifischen Konstanten sowie die Korrelationskoeffizienten (r) für die Anpassung der Eichkurven an die experimentellen Meßwerte und die statistische Beurteilung der Korrelationskoeffizienten, sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tab. 2: Eichkurvenparameter

Substanz	a	b	r	p<
CH_3-CH_3	3395	- 8,2	0,99991	0,001
CH_2=CH_2	3435	52,4	0,99896	0,001
CH_3-OH	1068	-43,5	0,99876	0,001

Die graphische Darstellung der Eichkurven ist in den Abbildungen 1, 2 und 3 erfolgt.

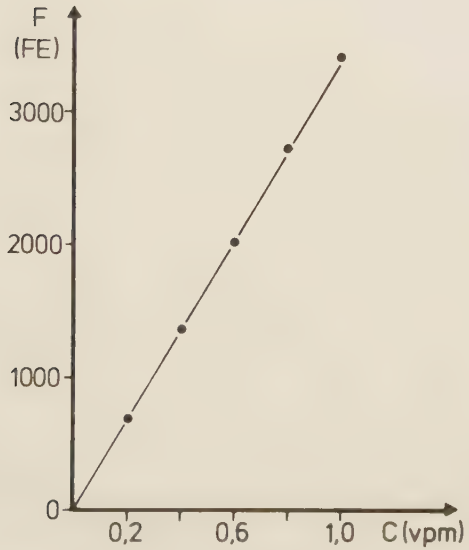


Abb. 1: Peakfläche als Funktion der Äthankonzentration

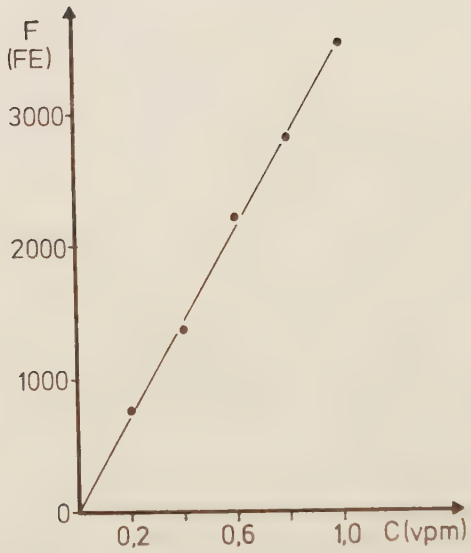


Abb. 2: Peakfläche als Funktion der Äthenkonzentration

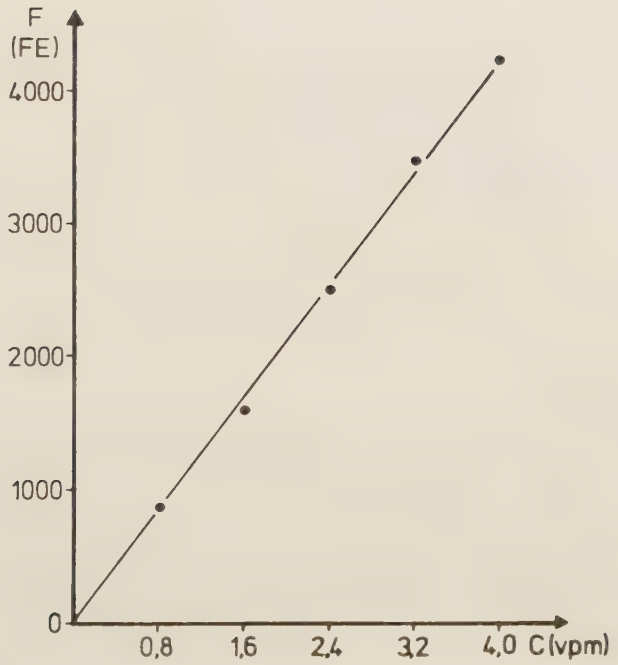


Abb. 3: Peakfläche als Funktion der Methanolkonzentration

4.2.2 Berechnung der Fremdstoffexspiration

Aus der nach 4.2.1. ermittelten Peakfläche eines exspirierten Fremdstoffes ist die während der Versuchsdauer im Exsikkator akkumulierende Fremdstoffmenge pro kg Versuchstier nach folgender Formel berechnet worden:

$$M = \frac{44{,}64 \cdot (F - b) \cdot V}{a \cdot G} \quad (\text{nmol/kg} \cdot \text{t})$$

wobei die einzelnen Symbole folgende Bedeutung haben:

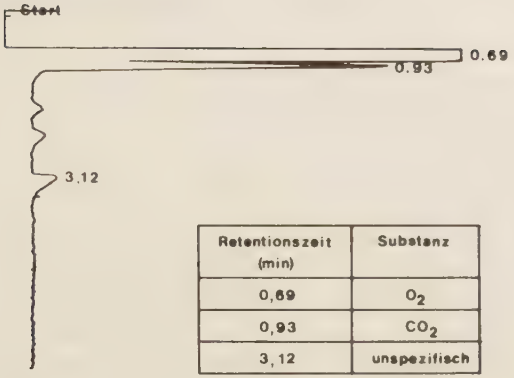
a, b: Eichkurvenparameter aus Tab. 2
F: Peakfläche (FE)
G: Gesamtmasse der Versuchstiergruppe (g)
M: Fremdstoffmenge (nmol/kg·t)
t: Versuchsdauer (min)
V: Nettovolumen des Exsikkators (ml)

5. Ergebnisse

Auf die vorstehend beschriebene Weise sind folgende Untersuchungsergebnisse gewonnen worden:

5.1. Kontrollversuche

Abbildung 4 zeigt ein typisches Chromatogramm von unbehandelten Kontrolltieren nach 180 Minuten langer Versuchsdauer.



Retentionszeit (min)	Substanz
0,69	O_2
0,93	CO_2
3,12	unspezifisch

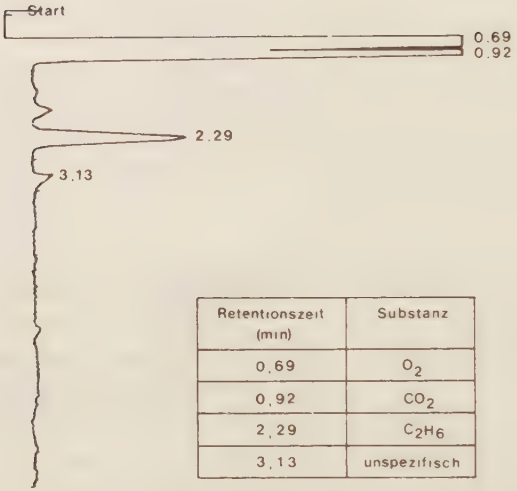
Abb. 4: Gaschromatogramm von Kontrollmäusen ohne Chlormethanbelastung

Die vorstehende Abbildung zeigt, daß in den Chromatogrammen verschiedene unspezifische Peaks vorkamen, z.B. ein Peak für O_2 und CO_2.

Sie sind bei der Auswertung unberücksichtigt geblieben, ebenso Peaks, welche einem applizierten Chlormethanderivat selbst zuzuordnen waren.

5.2. Testversuche mit Tetrachlormethan (Tetrachlorkohlenstoff)

Ein typisches Chromatogramm nach der Versuchstierbelastung mit Tetrachlormethan ist in Abbildung 5 dargestellt. Weitere Peaks sind auch bei 2stündiger Laufzeit der Chromatogramme nicht aufgetreten.



Retentionszeit (min)	Substanz
0,69	O_2
0,92	CO_2
2,29	C_2H_6
3,13	unspezifisch

Abb. 5: Gaschromatogramm nach CCl_4-Belastung (1000 mg/kg intraperitoneal)

Ein Vergleich von Abbildung 5 mit dem Kontrollchromatogramm von Abbildung 4 zeigt, daß CCl_4 einen Peak mit einer Retentionszeit von 2,29 Minuten verursacht. Er konnte als Äthanpeak identifiziert werden und hat sich als dosis- und zeitabhängig erwiesen, wie aus Tabelle 3 hervorgeht.

Tab. 3: Äthanexspiration (nmol/kg·t) nach Tetrachlormethanverabreichung

t (min)	CCl_4-Dosis (mg/kg)				
	500	1000	1500	2000	2500
45	17 15	19 18	24 19	27 26	31
90	22 26	29 26	42 29	34 38	47
135	29	37 30	32 43	40 43	58 50
180	30 33	39 34	49 38	44 48	63 54

t: Zeit post applicationem

Die Ergebnisse von Tabelle 3 sind in den Abbildungen 6 und 7 veranschaulicht.

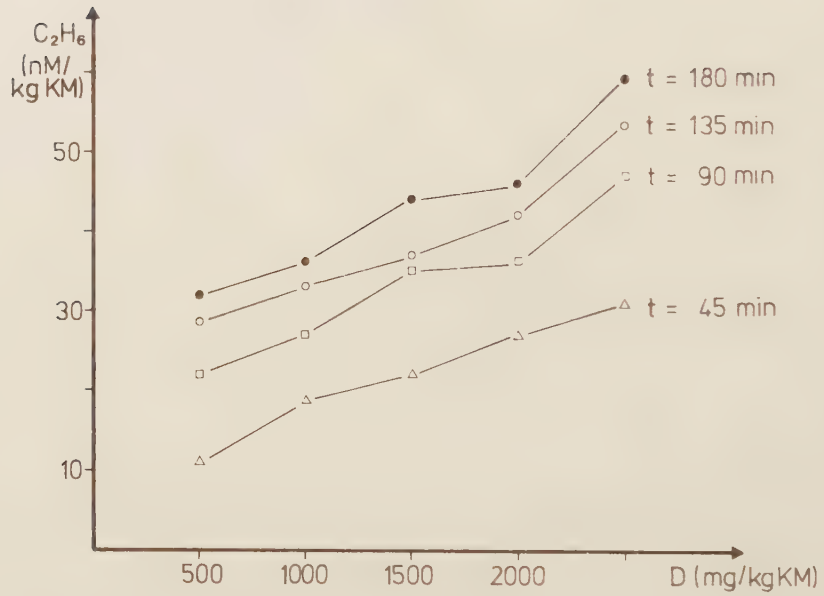


Abb. 6: Dosisabhängigkeit der Äthanexspiration nach CCl_4-Belastung (t: Zeit post appl.)

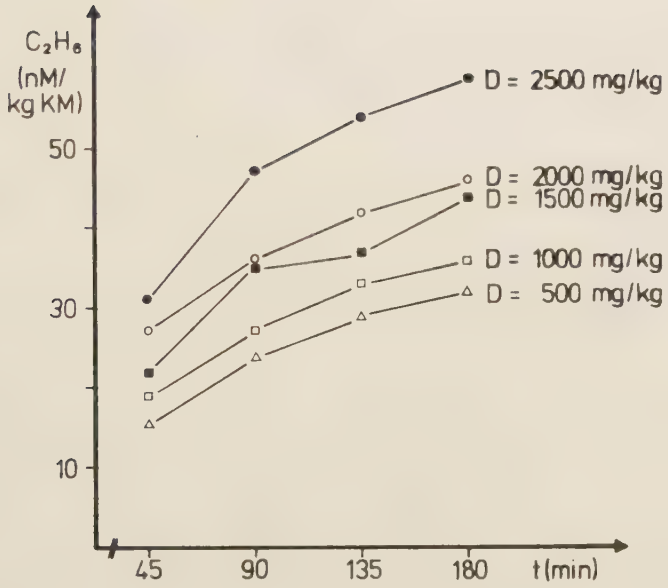
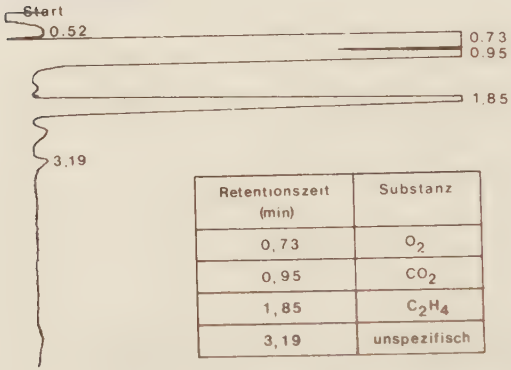


Abb. 7: Zeitabhängigkeit der Äthanexspiration nach CCl_4-Belastung (D: Dosis)

5.3. Testversuche mit Trichlormethan (Chloroform)

Ein typisches Chromatogramm nach der Belastung der Versuchstiere mit Chloroform ist in der folgenden Abbildung dargestellt.

Weitere Peaks sind auch bei 2stündiger Laufzeit der Chromatogramme nicht aufgetreten.



Retentionszeit (min)	Substanz
0,73	O_2
0,95	CO_2
1,85	C_2H_4
3,19	unspezifisch

Abb. 8: Gaschromatogramm nach $CHCl_3$-Belastung (160 mg/kg intraperitoneal)

Ein Vergleich von Abbildung 8 mit dem Kontrollchromatogramm von Abbildung 4 zeigt, daß $CHCl_3$ einen Peak mit einer Retentionszeit von 1,85 Minuten verursacht. Er konnte als Äthenpeak identifiziert werden und hat sich als dosis- und zeitabhängig erwiesen, wie aus Tabelle 4 hervorgeht.

Tab. 4: Äthenexspiration von Mäusen (nmol/kg·t) nach Chloroform-Belastung

t (min)	$CHCl_3$-Dosis (mg/kg)				
	80	120	160	200	240
45	11	144	198 (a 51,8(b	259	301
90	81	164	260 (a 69,6(b	360	451
135	68	191	264 (a 76,1(b	407	513
180	54	176	294 (a 68,3(b	425	552

t: Zeit post applicationem
(a: Mittelwert ($\bar{x}$)
(b: Standardabweichung ($s_{\bar{x}}$)

Die Ergebnisse von Tabelle 4 sind in den Abbildungen 9 und 10 veranschaulicht.

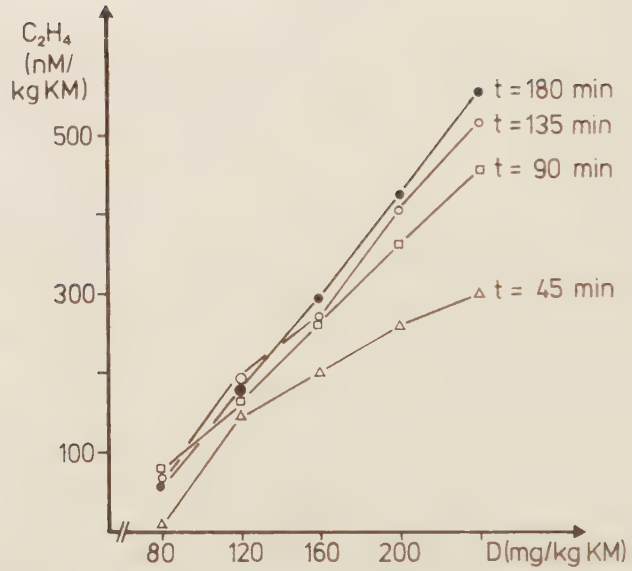


Abb. 9: Dosisabhängigkeit der Äthenexspiration nach $CHCl_3$-Belastung (t: Zeit post appl.)

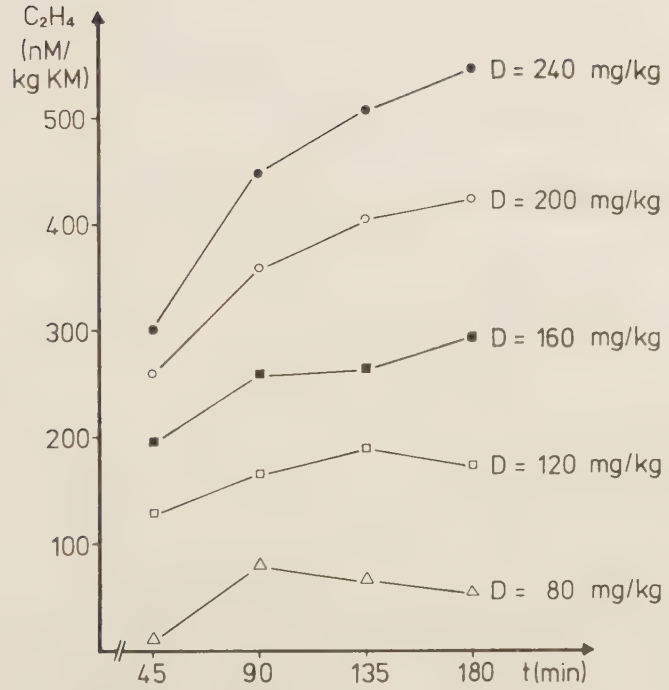
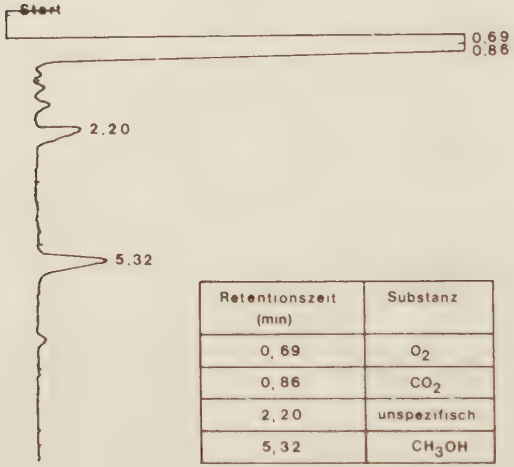


Abb. 10: Zeitabhängigkeit der Äthenexspiration nach $CHCl_3$-Belastung (D: Dosis)

5.4. Testversuche mit Dichlormethan (Methylenchlorid)

Ein typisches Chromatogramm nach der Belastung der Versuchstiere mit Dichlormethan ist in Abbildung 11 dargestellt.

Weitere Peaks sind auch bei 2stündiger Laufzeit der Chromatogramme nicht aufgetreten.



Retentionszeit (min)	Substanz
0,69	O_2
0,86	CO_2
2,20	unspezifisch
5,32	CH_3OH

Abb. 11: Gaschromatogramm nach CH_2Cl_2-Belastung (16 mg/kg intraperitoneal)

Ein Vergleich von Abbildung 11 mit dem Kontrollchromatogramm von Abbildung 4 zeigt, daß CH_2Cl_2 einen Peak mit einer Retentionszeit von 5,32 min. verursacht. Er konnte als Methanolpeak identifiziert werden und hat sich als dosis- und zeitabhängig erwiesen, wie aus Tabelle 5 hervorgeht.

Tab. 5: Methanolexspiration von Mäusen (nmol/kg·t) nach Dichlormethan-Belastung

t (min)	CH_2Cl_2-Dosis (mg/kg)				
	1	2	4	8	16
45	33	49	50	56	50 68
90	50	53 (a 12,8(b	48 64	69 (a 15,8(b	95 77
135	55 (a 12,3(b	64 (a 15,7(b	79 75	92 (a 16,9(b	133 122
180	58 (a 15,4(b	63 (a 16,1(b	77 (a 16,1(b	107 (a 24,7(b	175 174

t: Zeit post applicationem

(a: Mittelwert ($\bar{x}$)

(b: Standardabweichung ($s_{\bar{x}}$)

Die Ergebnisse von Tabelle 5 sind in den Abbildungen 12 und 13 veranschaulicht.

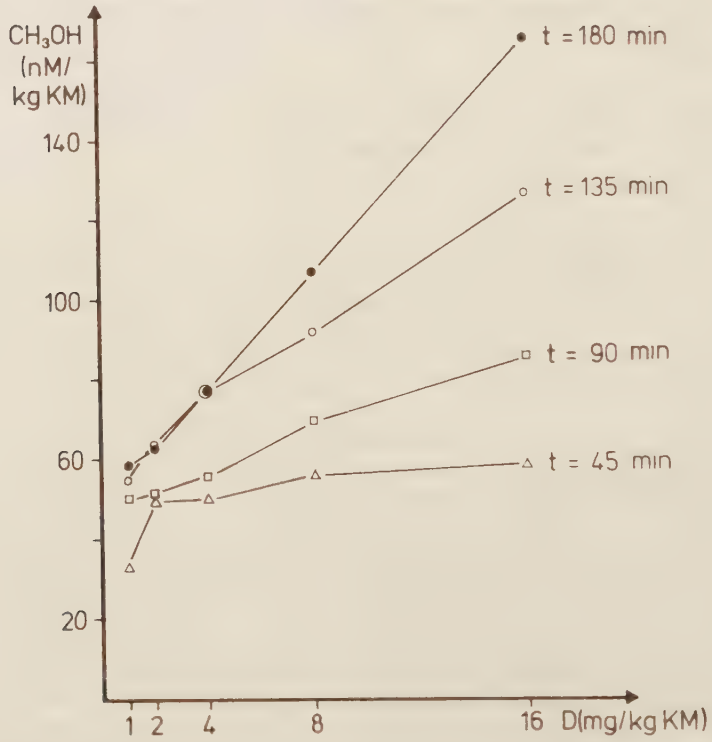


Abb. 12: Dosisabhängigkeit der Methanolexspiration nach CH_2Cl_2-Belastung (t: Zeit post appl.)

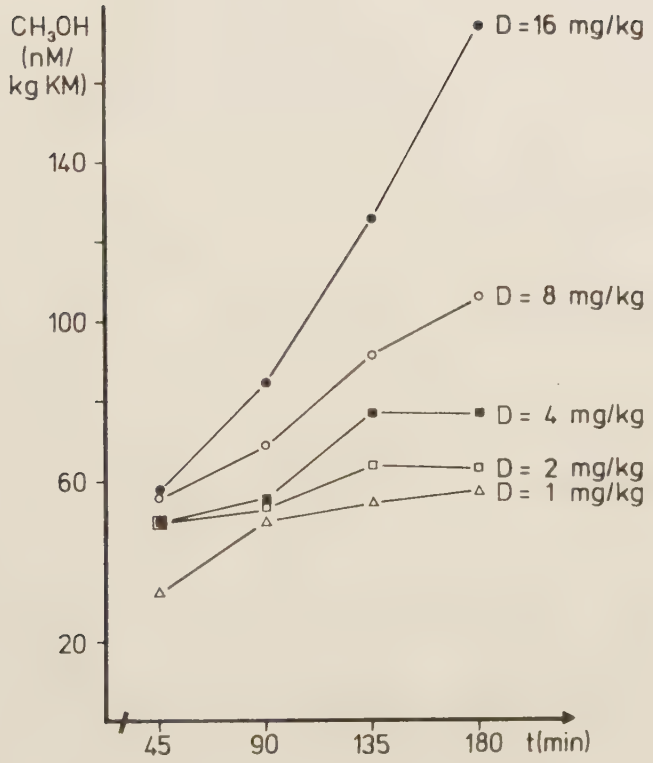
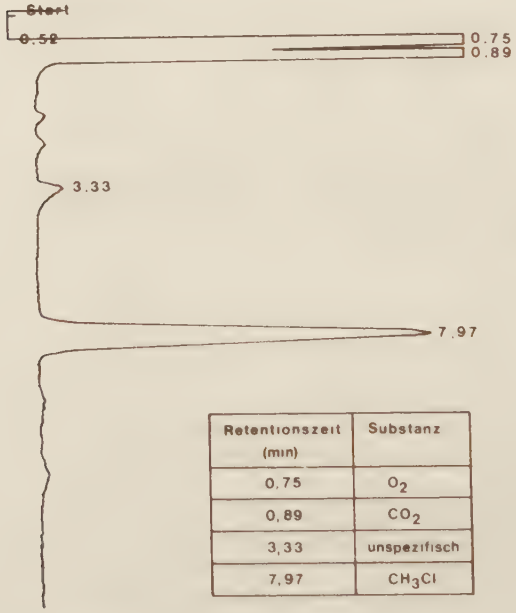


Abb. 13: Zeitabhängigkeit der Methanolexspiration nach CH_2Cl_2-Belastung (D: Dosis)

5.5. Testversuche mit Monochlormethan (Methylchlorid)

Ein typisches Chromatogramm nach der Versuchstierbelastung mit Monochlormethan ist in Abbildung 14 dargestellt. Es zeigt einen dosisabhängigen Peak mit einer Retentionszeit von 7,97 Minuten, welcher unverändertem Monochlormethan zugeordnet werden konnte. Weitere Peaks sind auch bei 2stündiger Laufzeit der Chromatogramme nicht registriert worden.



Retentionszeit (min)	Substanz
0,75	O_2
0,89	CO_2
3,33	unspezifisch
7,97	CH_3Cl

Abb. 14: Gaschromatogramm nach CH_3Cl-Belastung (56 mg/kg intraperitoneal)

5.6. Statistische Beurteilung der Versuchsergebnisse

Aus Tabelle 3, 4 und 5 bzw. Abbildung 6, 7, 9, 1o, 12 und 13 geht hervor, daß

- die Äthanexspiration nach CCl_4-,
- die Äthenexspiration nach $CHCl_3$- und
- die Methanolexspiration nach CH_2Cl_2-

Belastung der Versuchstiere dosis- und zeitabhängig zu sein scheinen.

Zur statistischen Überprüfung dieses Eindrucks sind die Tabellen 3, 4 und 5 anhand des Vorzeichentestes von DIXON und MOOD (Sachs 1978) mit dem in Tabelle 6 zusammengefaßten Ergebnis ausgewertet worden.

Tab. 6: Signifikanz von Dosis- und Zeitabhängigkeit der Äthan-, Äthen- und Methanolexspiration ($p <$)

Fremdstoff	Dosisabhängigkeit	Zeitabhängigkeit
CH_3-CH_3	0,005	0,005
CH_2=CH_2	0,005	0,05
CH_3-OH	0,005	0,025

Aus der vorstehenden Tabelle ergibt sich, daß die nachgewiesene Exspiration von Äthan, Äthen und Methanol

a) von der applizierten Chlormethandosis abhängig und damit substanzspezifisch ist und
b) im Laufe der ersten 3 Stunden nach der Chlormethanverabreichung ansteigt.

IV. DISKUSSION

Im folgenden soll zunächst zur Methodik der durchgeführten Untersuchungen, sodann zu den Ergebnissen Stellung genommen werden.

Methodik. Wie bei der Versuchsbeschreibung angegeben, ist die Exspirationsluft der Versuchstiere (ohne CO_2) mit einem Flammenionisationsdetektor analysiert worden. Dieser Detektor registriert Ionen, wie sie bei der (im Gaschromatographen stattfindenden) Verbrennung von Kohlenwasserstoffen und anderen brennbaren Gasen bzw. Dämpfen entstehen. Dies ist der Grund, weshalb in den Chromatogrammen der Atemluft nur nach einer Versuchstierbelastung mit dem brennbaren Methylchlorid (Monochlormethan), nicht jedoch nach Verabreichung der drei unbrennbaren Chlormethanderivate, Substanzpeaks aufgetreten sind (vgl. Abb. 14 mit Abb. 11, 8 und 5), obwohl auch die unbrennbaren Derivate flüchtig sind und in der Exspirationsluft vorliegen.

Neben Methylchlorid sind vom Detektor Äthan, Äthen und Methanol erfaßt worden, die alle brennbar sind. Diese drei Verbindungen müssen nach dem derzeitigen Stand des Wissens als Fremdstoffe in der Atemluft bezeichnet werden, die bei den Kontrolltieren nicht oder nur in Spuren nachweisbar sind (Abb. 4). Durch Chromatographie der applizierten Chlormethanderivate ist zunächst sichergestellt worden, daß sie nicht als Verunreinigungen in den Testsubstanzen enthalten waren. Da ihr Exspirationsumfang trotzdem mit der Tetra-, Tri- bzw. Dichlormethandosis korreliert war (Abb. 6, 9, 12), sollte der Schluß erlaubt sein, daß die Äthan-, Äthen- und Methanolexspiration von den drei Chlormethanderivaten verursacht worden ist, d. h. eine spezifische Wirkung dieser drei Chlorkohlenwasserstoffe darstellt.

Abgesehen von den vorstehenden Überlegungen, ist schließlich noch die Frage zu erörtern, ob die Äthan-, Äthen- und Methanolexspiration von der Sauerstoffbeatmung der Versuchstiere beeinflußt worden ist, wie dies von Haugaard (1968) diskutiert wird. Sie kann anhand der Kontrollversuche (Abb. 4) dahingehend beantwortet werden, daß unbehandelte Versuchstiere bei dreistündiger Exposition in reinem Sauerstoff nur eine geringe Äthan- bzw. Äthenexspiration aufweisen. Vergleichbare Äthanbefunde sind von Köster et al. (1977) bei Ratten und Mäusen sowie Kieczka et al. (1979) bei Ratten erhoben worden.

Kieczka et al. (1979) haben darüber hinaus festgestellt, daß die dreistündige Äthanexspiration ihrer Versuchstiere nach einer Tetrachlorkohlenstoffbelastung in 20 %iger Sauerstoffatmosphäre etwa drei mal höher ist als in reinem Sauerstoff. Sie erklären dieses Phänomen mit einer Hemmung der Tetrachlorkohlenstoffmetabolisierung (zu Tetrachlormethanradikalen: $CCl_3^{\cdot}$) infolge Konkurrenz von O_2 und CCl_4 um denselben Rezeptor an Cytochromen P-450.

Insgesamt ergibt sich aus diesen Befunden, daß die Exposition von Versuchstieren in reinem Sauerstoff
- bei unbehandelten Kontrolltieren eine vernachlässigbare Kohlenwasserstoffexspiration zur Folge hat und
- bei einer Chlormethanbelastung wahrscheinlich zu einer geringeren Exspiration kurzkettiger Kohlenwasserstoffe führt als die Beatmung mit Luft.

Ergebnisse. Die in Abbildung 6 dargestellte dosisabhängige Exspiration von Ä t h a n nach einer Versuchstierbelastung mit T e t r a c h l o r k o h l e n s t o f f bestätigt vergleichbare Ergebnisse von Cohen et al. (1968), Hafeman und Hoekstra (1977), Köster et al. (1977) sowie Caroline Riely et al. (1974). Sie wird von diesen Autoren mit einer Peroxidation von zellulären Membranlipiden durch metabolische Tetrachlorkohlenstoffradikale erklärt, wobei als Zerfallsprodukte der oxidierten Lipide flüchtige Kohlenwasserstoffe entstehen. Nach Dumelin und Tappel (1977)

wird Äthan dabei hauptsächlich aus Linolensäure gebildet.

Im Gegensatz zur allgemein akzeptierten Entstehung von metabolischen Tetrachlorkohlenstoffradikalen, ist die intermediäre Bildung von Chloroformradikalen kontrovers, wie die z. Tl. widersprüchlichen Arbeiten von Cawthorn et al. (1971), Klaasen und Plaa (1969), Koch et al. (1974) sowie Reynolds und Yee (1968) zeigen. Lediglich Sagai und Tappel (1979) konnten in jüngster Zeit eine Radikalbildung nach der Verabreichung von Chloroform anhand einer Pentanexspiration von Ratten wahrscheinlich machen. Die in Abbildung 8, 9 und 10 angegebene Ä t h e n - Exspiration nach C h l o r o f o r m - Belastung ist bislang nicht beschrieben. Die Exspiration dieses Kohlenwasserstoffes ist nach Dumelin und Tappel (1977), Frank et al. (1978), Hintze und Remmer (1979) sowie Liebermann und Hochstein (1966) gleichfalls als Indikator einer Lipidperoxidation durch Radikale und/oder Peroxide etc. anzusehen. Äthen soll dabei - wie Äthan - vor allem aus Linolensäureperoxiden entstehen (Dumelin und Tappel 1977). Demzufolge besteht Übereinstimmung zwischen den Befunden von Sagai und Tappel (1979) und den eigenen Ergebnissen.

Im Unterschied zu Tetrachlorkohlenstoff und Chloroform konnten nach Verabreichung von M e t h y l e n c h l o r i d (Dichlormethan) und M e t h y l c h l o r i d (Monochlormethan) k e i n e K o h l e n w a s s e r s t o f f e in der Atemluft der Versuchstiere nachgewiesen werden (s. Abb. 11 und 14). Die eigenen Untersuchungen ergaben also keinen Hinweis auf eine Lipidperoxidation durch diese beiden Chlormethanderivate. Man wird deshalb annehmen dürfen, daß Dichlor- und Monochlormethan in vivo nicht zu Radikalen umgesetzt werden (bei der Maus) und kann dies mit der hohen Stabilität ihrer Chlor-Kohlenstoffbindungen erklären. Nach Butler (1961) ist die Bindungsstabilität bei den chlorierten Methanderivaten nämlich von den induzierten Partialladungen an den Chloratomen (und am Kohlenstoffatom)

abhängig, welche vom Tetrachlor- zum Monochlormethan ansteigen und von Dailey (1960) zu -0,39-, -0,52-, -0,70- bzw. $-0,99 \cdot 10^{-10}$ esu (a) berechnet wurden. Damit läßt sich die in der Einleitung skizzierte Fragestellung nach dem Mechanismus der leberschädigenden Wirkung von halogenierten Alkanen dahingehend beantworten, daß

- Tetrachlorkohlenstoff und Chloroform in vivo offenbar zu lebertoxischen Radikalen metabolisiert werden, während
- Methylenchlorid und Methylchlorid in vivo anscheinend keine Radikalbildung auslösen.

Diese Schlußfolgerung deckt sich mit der Hepatotoxizität der vier untersuchten Chlormethanderivate insofern, als nach von Oettingen (1955) nur Tetrachlorkohlenstoff und Chloroform, nicht jedoch Methylenchlorid und Methylchlorid, Lebergifte sind. Daß von den Radikalbildnern besonders die Leber in Mitleidenschaft gezogen wird, erklärt sich aus dem Umstand, daß die Radikalbildung hauptsächlich durch die mikrosomalen Monooxygenasen der Leber katalysiert wird (Burdino et al. 1973; Recknagel und Glende 1973; Sagai und Tappel 1979; Slater 1966).

Abgesehen von den erörterten Untersuchungsbefunden, ist in den Chromatogrammen der Exspirationsluft nach einer D i c h l o r m e t h a n - Belastung der Versuchstiere ein Peak aufgetreten (Abb. 11), der als M e t h a n o l - Peak identifiziert werden konnte. Weitere Untersuchungen ergaben die in Abbildung 12 dargestellte Abhängigkeit der Methanolexspiration von der Dichlormethandosis. Dies zeigt, daß die Metabolisierung von Dichlormethan bei der Maus offenbar über Methanol führt, das vielleicht auf folgende Weise gebildet wird:

a: esu = elektrostatische Einheit

$$CH_2Cl_2 + H_2O + NADH + H^+ \xrightarrow{ADH} CH_3OH + 2\ HCl + NAD^+$$

(ADH: Alkohol-Dehydrogenase)

Wahrscheinlich stellt das als Dichlormethanmetabolit bis jetzt nicht beschriebene Methanol die Vorstufe des von Heppel und Porterfield (1948) in der Rattenleber nachgewiesenen Formaldehyds dar, da ja bekannt ist, daß Methanol bei allen Species zu Formaldehyd biotransformiert wird (Mannering et al. 1965). Die Formaldehydbildung erfolgt nach Kubic und Anders (1975) im Cytosol und ist nicht gekoppelt mit der bei Ratten und dem Menschen mehrfach beschriebenen Metabolisierung von Dichlormethan zu Kohlenmonoxid durch mikrosomale Monooxygenasen (Kubic et al. 1974; Kubic und Anders 1975; Ratney et al. 1974; Stewart et al. 1972).

V. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit werden Untersuchungen über lipidperoxidierende Eigenschaften von Tetrachlormethan (CCl_4; Tetrachlorkohlenstoff), Trichlormethan ($CHCl_3$; Chloroform), Dichlormethan (CH_2Cl_2; Methylenchlorid) und Monochlormethan (CH_3Cl; Methylchlorid) in vivo beschrieben.

Die Untersuchungen wurden mit männlichen und weiblichen Mäusen durchgeführt, denen die Chlormethanderivate intraperitoneal verabreicht worden sind. Als Parameter der Lipidperoxidation sind kurzkettige flüchtige Kohlenwasserstoffe in der Exspirationsluft, d. h. Zerfallsprodukte oxidativ geschädigter Membranlipide, gaschromatographisch erfaßt worden.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

a) Tetrachlormethan verursacht eine dosisabhängige Exspiration von Äthan, Trichlormethan eine dosisabhängige Exspiration von Äthen.

b) Die Verabreichung von Dichlor- und Monochlormethan hat keine Exspiration von flüchtigen Kohlenwasserstoffen zur Folge.

c) Die Befunde werden als Peroxidation von Membranlipiden durch oxidierende Metaboliten (Radikale, Peroxide etc.) von Tetrachlor- und Trichlormethan interpretiert, die bei Dichlor- und Monochlormethanverabreichung offenbar nicht gebildet werden. Gleichzeitig wird auf den Zusammenhang zwischen lipidperoxidierenden Eigenschaften und Hepatotoxizität der vier Chlormethanderivate hingewiesen.

d) Abgesehen von flüchtigen Kohlenwasserstoffen, hat die Applikation von Dichlormethan eine dosisabhängige Exspiration von Methanol verursacht, das bei der Maus offensichtlich als Intermediärprodukt bei der Metabolisierung des Chlormethanderivates zu Formaldehyd entsteht.

SUMMARY

In the present study in vivo investigations on the lipid peroxidizing properties of tetrachloromethane (CCl_4; carbon tetrachloride), trichloromethane ($CHCl_3$; chloroform), dichloromethane (CH_2Cl_2; methylene chloride), and monochloromethane (CH_3Cl; methyl chloride) were described.

The investigations were performed with male and female mice, which were treated intraperitoneally with the chloromethanes. Short chained volatile hydrocarbons in the exhaled air, that means scission products of oxidative injured membrane lipids, were measured gaschromatographically as parameter of the lipid peroxidation.

The results may be summarized as follows:

a) Tetrachloromethane causes a dose-dependent expiration of ethane, trichloromethane causes a dose-dependent expiration of ethene.

b) The administration of dichloro- and monochloromethane does not result in an expiration of volatile hydrocarbons.

c) These findings were interpreted as peroxidation of membrane lipids by oxydizing metabolites (radicals, peroxides etc.) of tetrachloro- and trichloromethane which obviously are not produced by dichloro- and monochloromethane. In addition it is focused on the correlation between lipid peroxidizing properties and hepatotoxicity of the four chloromethane derivatives.

d) Except of volatile hydrocarbons, the application of dichloromethane causes a dose-dependent expiration of methanol, which in the mouse obviously is produced as an intermediate during metabolism of the chloromethane derivative to formaldehyde.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

Bhooshan B, Pohl LR, Krishna G
A biochemical mechanism for chloroform activation
Fed. Proc. 36, 396, 1977

Bonse G, Henschler D
Chemical reactivity, biotransformation, and toxicity of polychlorinated aliphatic compounds
Crit. Rev. Toxicol. 4, 395-309, 1976

Borbely, F
Vergiftungen durch halogenierte Kohlenwasserstoffe
In: Handbuch der gesamten Arbeitsmedizin Bd.2, Tl.1
Berlin, München, Wien: Urban und Schwarzenberg 1961

Briskorn M von, Clauberg G, Kronschwitz H
Vergleichende Untersuchungen über EKG-Veränderungen während der Einleitung von Chloroform- und Halothan-narkosen
Anaesthesist 15, 294-295, 1966

Brown, BR
Hepatic microsomal lipoperoxidation and inhalation anaesthetics
Anaesthesiology 36, 458-465, 1972

Brown DM, Langley PF, Smith D, Taylor DC
Metabolism of chloroform. I. The metabolism of ^{14}C-chloroform by different species
Xenobiotica 4, 151-163, 1974

Burdino E, Gravela E, Ugazio G, Vannini V, Calligaro A
Initiation of free radical reactions and hepatotoxicity in rats poisoned with carbon tetrachloride or bromtrichloro-methane
Agents and Action 4, 244-253, 1973

Butler TC
Reduction of carbon tetrachloride in vivo and reduction of carbon tetrachloride and chloroform in vitro by tissues and tissue constituents
J. Pharmacol. 134, 311-319, 1961

Cameron C, Karunaratne W
Carbon tetrachloride cirrhosis in relation to liver regeneration
J. Pathol. Bacteriol. 42, 1-21, 1936

Castro JA, Diaz Gomez MJ, de Ferreyra EC, de Castro CR, D'Acosta N, de Fenos OM
Carbon tetrachloride effect on rat liver and adrenals related to their mixed function oxygenase content
Biochem. Biophys. Res. Commun. 47, 315-321, 1972a

Castro JA, Cignoli EV, de Castro CR, de Fenos OM
Prevention by cystamine of liver necrosis and early biochemical alterations induced by carbon tetrachloride
Biochem. Pharmacol. 21, 49-51, 1972b

Castro JA, de Ferreyra EC, de Castro CR, Diaz Gomez MJ, D'Acosta N, de Fenos OM
Studies on the mechanism of cystamine prevention of several liver structural and biochemical alterations caused by carbon tetrachloride
Toxicol. Appl. Pharmacol. 24, 1-19, 1973

Cawthorne MA, Palmer ED, Bunyan J, Green J
In vivo effects of carbon tetrachloride and chloroform on liver and kidney glucose-6-phosphatase in mice
Biochem. Pharmacol. 20, 494-496, 1971

Chenoweth MB, Robertson DN, Erley DS, Gohlke R
Blood and tissue levels of ether, chloroform, halothane and methoxyflurane in dogs
Anaesthesiology 23, 101-106, 1962

Chopra P, Roy S, Ramalingaswarm V, Nayak N
Mechanism of carbon tetrachloride hepatotoxicity. An in vivo study of its molecular basis in rats and monkeys
Lab. Invest. 26, 716-724, 1972

Ciccoli L, Casini AF, Benedetti A
Free radical damage produced by CCl_4 in the lipids of various rat tissues
Agents and Action 8, 303-310, 1978

Cohen G, Riely Caroline A, Lieberman M
Ethane formation from lipid peroxides in mammalian cells
Fed. Proc. 27, 648 (abstr. 2436), 1968

Cohen G
Lipid peroxidation: detection in vivo and in vitro through the formation of saturated hydrocarbon gases
London: Symposium on oxygen free radicals and tissue damage der Ciba Foundation vom 6. bis 8.6.78

Cohen G
Lipid peroxidation: detection in vivo an in vitro through the formation of saturated hydrocarbon gases
In: Ciba Foundation Symposium 65 "Oxygen Free Radicals and Tissue Damage"
Amsterdam, Oxford, New York: Excerpta Medica 1979

Commission for investigation of health hazards of chemical compounds in the work area of the German Research Society.
Maximum concentrations at the workplace 1979
Boppard: H. Boldt 1979

Commoner B, Townsend J, Pake GE
Free radicals in biological materials
Nature (Lond.) 174, 689-691, 1954

Dahle LK, Hill EG, Holman RT
The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters
Arch. Biochem. Biophys. 98, 235-261, 1962

Dailey BP
Halogen bond character in the alkyl halides
J. Chem. Phys. 33, 1641-1643, 1960

Dillard Cora J, Tappel AL
Fluorescent products of lipid peroxidation of mitochondria and microsomes
Lipids 6, 715-721, 1971

Dillard Cora J, Tappel AL
Fluorescent products from reaction of peroxidizing polyunsaturated fatty acids with phosphatidyl ethanolamine and phenylalanine
Lipids 8, 183-189, 1973

Dillard Cora J, Dumelin EE, Tappel AL
Effect of dietary vitamin E on expiration of pentane and ethane by the rat
Lipids 12, 109-114, 1976

Dingell JV, Heimberg M
The effects of aliphatic halogenated hydrocarbons on hepatic drug metabolism
Biochem. Pharmacol. 17, 1269-1278, 1968

Docks EL, Krishna G
The role of glutathione in chloroform induced hepatotoxicity
Exp. Mol. Path. 24, 13-22, 1976

Downey JE, Irving DH, Tappel AL
Effect of dietary antioxidants on in vivo lipid peroxidation in the rat as measured by pentane production
Lipids 13, 403-407, 1978

Dumelin EE, Tappel AL
Hydrocarbon gases produced during in vitro peroxidation of polyunsaturated fatty acids and decomposition of preformed hydroperoxides
Lipids 12, 894-900, 1977

Dyke RA van
On the fate of chloroform
Anaesthesiology 30, 257-258, 1969

Elger J, Volkmann HJ, Wahrenberg I, Klinger W
Normaktivitäten von GOT, GPT und Histidase in Leberhomogenat und Serum sowie Veränderungen der Enzymaktivitäten nach Tetrachlorkohlenstoff-Applikation bei unterschiedlich alten Ratten
Arch. Toxikol. 27, 40-52, 1970

Fodor GG, Praisnar D, Schlipköter HW
Endogenous CO formation by incorporated halogenated hydrocarbons of the methane series
Staub Reinhaltung der Luft 33, 260-261, 1973

Frank H, Hintze T, Remmer H
Volatile hydrocarbons in breath, an indicator for peroxidative degradation of lipids
Proceed. 2nd Internat. Symp. on Headspace Analysis Überlingen, Oct. 1978

Frank H, Bimboes D
Degradation-products of peroxidized lipids, a measure for membrane damage
Arch. Pharmacol. 307(S), Nr. 79, 1979

Friedman L, Sage J, Blenderman EM
Growth and liver response of chicks and rats to carbon tetrachloride an ethanol
Poult. Sci. 49, 298-309, 1970

Fröhner E
Lehrbuch der Arzneimittellehre für Tierärzte, 8te Aufl.
Stuttgart: F. Enke 1909

Fry BJ, Taylor T, Hathway DE
Pulmonary elimination of chloroform and its metabolites in man
Arch. Int. Pharmacol. Ther. 196, 98-111, 1972

Gallagher CH
The effect of antioxidants on poisoning by carbon tetrachloride
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 40, 241-253, 1962

Garner RJ
Veterinary toxicology, 3. Aufl.
London: Baillère, Tindall & Cassell 1967

Garner RC, McLean AEM
Increased susceptibility to carbon tetrachloride poisoning in the rat after pretreatment with oral phenobarbital
Biochem. Pharmacol. 18, 645-650, 1969

Gigon PL, Gram TE, Gilette JR
Studies on the rate of reduction of hepatic microsomal cytochrome P-450 by NADPH: effect of drug substrates
Molec. Pharmacol. 5, 109-122, 1969

Glende EA
CCl_4-induced protection against CCl_4 toxicity
Biochem. Pharmacol. 21, 1697-1702, 1972

Díaz Gómez MJ, de Castro CR, D'Acosta N, de Fenos N, de Ferreyra EC, Castro JA
Species differences in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity: the role of CCl_4-activation and of lipid peroxidation
Toxicol. Appl. Pharmacol. 34, 102-114, 1975

Goodman LS, Gilman A
The pharmacological basis of therapeutics, 5th Ed.
New York: Macmillan Publ. 1975

Gopinath C, Ford EJH
Modification of the hepatotoxic effect of $CHCl_3$ and halothane in calves
J. Path. Bact. 110, 333-341, 1973

Green J, Bunyan J, Cawthorne M, Diplock A
Vitamin E and hepatotoxic agents. 1. Carbon tetrachloride and lipid peroxidation in the rat
Brit. J. Nutr. 23, 297-307, 1969

Green J
Vitamin E and the biological antioxidant theory
Ann. N. Y. Acad. Sci. 203, 29-44, 1972

Gregory NL
Carbon tetrachloride toxicity and electron capture
Nature 212, 1460-1461, 1966

Gutteridge JM, Stocks J
Peroxidation of cell lipids
Med. Lab. Sci. 33, 281-285, 1976

Hafeman DG, Hoekstra WG
Protection against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation in the rat by dietary vitamin E, selenium, and methionine as measured by ethane evolution
J. Nutr. 107, 656-665, 1977

Hall M, Schillinger J
Miscellaneous tests of carbon tetrachloride as an anthelmintic
J. Agric. Res. 23, 163-192, 1923

Hathway DE
Chemical, biochemical and toxicological differences between carbon tetrachloride and chloroform
Arzneim. Forsch. 24, 173-176, 1974

Haugaard N
Cellular mechanism of oxygen toxicity
Physiol. Rev. 48, 311-373, 1968

Hellekant G
Distribution of chloroform-^{36}Cl in mice
Acta pharmacol. et toxicol. 21, 240-246, 1964

Hellwig A
Klinische Narkoseversuche mit Solästhin
Klin. Wschr. 1, 215-217, 1922

Heni N, Remmer H
Die Wirkung von Tetrachlorkohlenstoff auf endoplasmatische Enzyme der Rattenleber
Arch. Toxikol. 28, 1-11, 1971

Henschler D
Mechanismen der Aktivierung chlorierter aliphatischer Verbindungen - experimentelle Zugänge und klinische Bedeutung
Arzneim.-Forsch. 27, 1827-1832, 1977a

Henschler D
Chloroform
In: Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten
Weinheim: Verlag Chemie 1977b

Henschler D
Vergiftungen durch Halogen-Kohlenwasserstoffe
In: Okonek S, Füllgraff G, Frey R (Hrsg.)
Humantoxikologie. Akute Vergiftungen-Giftinformationen
Stuttgart, New York: Gustav Fischer 1979

Heppel LA, Porterfield VT
Enzymatic dehalogenation of certain brominated and chlorinated compounds
J. Biol. Chem. 176, 763-769, 1948

Hill RN, Clemens TL, Lin DK, Vessel ES, Johnson WD
Genetic control of chloroform toxicity in mice
Science 190, 159-161, 1975

Hintze T, Remmer H
Lipid peroxidation in vitro and in vivo due to $CBrCl_3$ or ethanol
Arch. Pharmacol. 307(S), Nr. 80, 1979

Hove EL
Interrelation between α-tocopherol and protein metabolism. III. The Protective effect of vitamin E and certain nitrogenous compounds against CCl_4 poisoning in rats
Arch. Biochem. 17, 467-474, 1948

Judah JD, McLean AEM, McLean EK
Biochemical mechanisms of liver injury
Amer. J. Med. 49, 609-616, 1970

Kappus H, Köster U, Köster-Albrecht D, Kieczka H, Remmer H
Lipid peroxidation induced by ethanol and halogenated hydrocarbons in vivo as measured by ethane exhalation
In: Sies H, Wendel A (Ed.)
Functions of glutathione in liver and kidney
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1979

Kast A
Über die Schicksale einiger organischer Chlorverbindungen im Organismus
Z. physiol. Chem. 11, 278-285, 1887

Keller F, Synder A, Petracek F, Sancier K
Hepatic free radical levels in ethanol treated and carbon tetrachloride treated rats
Biochem. Pharmacol. 20, 2507-2511, 1971

Kieczka H, Schulze R, Kappus H
Influence of different O_2-and Fe(II)-concentrations on the CCl_4-induced lipid peroxidation in vitro an in vivo
Arch. Pharmacol. 307(S), Nr. 81, 1979

Kimura ET, Ebert DM, Dodge PW
Acute toxicity and limits of solvent residue for sixteen organic solvents
Toxicol. Appl. Pharmacol. 19, 699-704, 1971

Klaassen CD, Plaa GL
Relative effects of various chlorinated hydrocarbons on liver and kidney function in mice
Toxicol. Appl. Pharmacol. 9, 139-151, 1966

Klaassen CD, Plaa GL
Relative effects of various chlorinated hydrocarbons on liver and kidney function in dogs
Toxicol. Appl. Pharmacol, 10, 119-131, 1967

Klaassen CD, Plaa GL
Comparison of the biochemical alterations elicited in livers from rats treated with carbon tetrachloride, chloroform, 1,1,2-trichlorethane and 1,1,1-trichlorethane
Biochem. Pharmacol. 18, 2019-1027, 1969

Klinger W, Neugebauer A, Splinter FK
Veränderungen der Biotransformation von Phenazon, Aminophenazon und Kodein als Zeichen der Frühschädigung der Rattenleber nach Tetrachlorkohlenstoffapplikation
Arch. Toxikol. 23, 179-185, 1968

Koch RR, Glende EA, Recknagel RO
Hepatotoxicity of bromotrichloromethane
Gastroenterology 65, 3, 1973

Koch RR, Glende EA, Recknagel RO
Hepatotoxicity of bromotrichloromethane bond dissociation energy and lipid peroxidation
Biochem. Pharmacol. 23, 2907-2915, 1974

Köster U, Albrecht D, Kappus H
Evidence for carbon tetrachloride- and ethanol induced lipid peroxidation in vivo demonstrated by ethane production in mice an rats
Toxicol. Appl. Pharmacol. 41, 639-648, 1977

Kubic VL, Anders MW, Engel RR, Barlow CH, Caughey WS
Metabolism of dihalomethanes to carbon monoxide.
I. In vivo studies
Drug Metab. Disp. 2, 53-57, 1974

Kubic VL, Anders MW
Metabolism of dihalomethanes to carbon monoxide.
II. In vitro studies
Drug Metab. Dispos. 3, 104-112, 1975

Kuschinsky G, Lüllmann H
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie, 6. Aufl.
Stuttgart: Enke 1974

Kylin B, Reichard H, Sümegi I, Yllner S
Hepatotoxicity of inhaled trichlorethylene and chloroform. Single exposure
Acta Pharmacol. Toxicol. 20, 16-26, 1963

Laham S, Potvin M, Schrader K
Toxicological studies on dichloromethane, a solvent simulating carbon monoxide poisoning
Toxicol. Eur. Res. 1, 63-73, 1978

Lamson PD, Minot AS, Robbins BH
The prevention and treatment of carbon tetrachloride intoxication
J. Am. Med. Assoc. 90, 345-349, 1928

Lehmann KB, Schmidt-Kehl L
Die 13 wichtigsten Chlorkohlenwasserstoffe der Fettreihe vom Standpunkt der Gewerbehygiene
Arch. Hyg. 116, 131-268, 1936

Lieberman M, Mapson LW
Genesis and biogenesis of ethylene
Nature 204, 343-345, 1964

Lieberman M, Hochstein P
Ethylene formation in rat liver microsomes
Science 152, 213-214, 1966

Lindström TD, Anders W
Effect of agents known to alter carbon tetrachloride hepatotoxicity and cytochrom P-450 levels on carbon tetrachloride-stimulated lipid peroxidation and ethane expiration in the intact rat
Biochem. Pharmacol. 27, 563-567, 1978

Litov RE, Dillard CJ, Downey J, Irving D, Sagai M, Gee D, Tappel AL
Measurement of in vivo lipid peroxidation via pentane: effect of vitamin E, selenium and polyunsaturated fats and assay for acute toxic reactions
Fed. Proc. 37, 706, 1978

Di Luzio NR, Costales F
Inhibition of the ethanol and carbon tetrachloride induced fatty liver by antioxidants
Exp. Mol. Pathol. 4, 141-154, 1965

Mannering GJ, Makar AB, VanHarken DR, Tephly TR
A species difference in the oxidation of methanol
Toxicol. Appl. Pharmacol. 7, 490, 1965

Mansuy D, Beaune P, Cresteil T, Lange M, Leroux JP
Evidence for phosgene formation during liver microsomal oxidation of chloroform
Biochem. Biophys. Res. Comm. 79, 513-517, 1977

Matkovics B, Novak R, Szabó L, Marik M, Zsoldos T
Effect of acute carbon tetrachloride intoxication on the lipid peroxidation and the enzymes of the peroxide metabolism of rat tissues
Gen. Parmacol. 9, 329-332, 1978

McConnel G, Ferguson DM, Pearson CR
Chlorinated hydrocarbons in the environment
Endeavour 34, 13-27, 1975

McLean AEM, McLean EK
The effect of diet on 1,1,1-trichloro-2,2-bis-(p-chlorphenyl)-ethane (DDT) on microsomal hydroxylating enzymes and on sensitivity of rats to carbon tetrachloride poisoning
Biochem. J. 100, 564-571, 1966

McLean AEM
Effect of hexane and carbon tetrachloride on microsomal cytochrome P 450
Biochem. Pharmacol. 16, 2030-2033, 1967a

McLean AEM
Effect of halogenated hydrocarbons on microsomal cytochrome (P-450)
Biochem. J. 103, 13P, 1967b

McLean AEM
The effect of protein deficiency and enzyme induction by DDT and phenobarbitone on the toxicity of chloroform and a pyrrolizidine alkaloid Retrosine.
Brit. J. Exp. Path. 51, 317-321, 1970

Menzel H
Herzrhythmusstörungen in der Narkose und ihre rationale Behandlung
Fortschr. Med. 88, 268-270, 1970

Meyer Jones L, Booth NH, McDonald LE (Eds.)
Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 4th Ed.
Ames: Iowa State University Press 1977

Neubert D, Maibauer D
Vergleichende Untersuchungen der oxidativen Wirkungen von Mitochondrien und Mikrosomen bei experimenteller Leberschädigung
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Exp. Path. Pharmak. 235, 291-300, 1959

Neumüller OA
Chloroform
In: Römpps Chemie-Lexikon Band I, 7. Aufl.
Stuttgart: Franck'sche Verlagsbuchhandlung 1972

Neumüller OA
Methylchlorid
In: Römpps Chemie-Lexikon Band IV, 7. Aufl.
Stuttgart: Franck'sche Verlagsbuchhandlung 1974a

Neumüller OA
Methylenchlorid
In: Römpps Chemie-Lexikon Band IV, 7. Aufl.
Stuttgart: Franck'sche Verlagsbuchhandlung 1974b

Neumüller OA
Tetrachlorkohlenstoff
In: Römpps Chemie-Lexikon Band VI, 7. Aufl.
Stuttgart: Franck'sche Verlagsbuchhandlung 1977

Nunes AC, Schoenborn BP
Dichloromethane and myoglobin function
Mol. Pharmacol. 9, 835-839, 1973

O'Brien PJ
Intracellular mechanisms for the decomposition of a lipid peroxide. I. Decomposition of a lipid peroxide by metal ions, heme compounds and nucleophiles
Can. J. Biochem. 47, 485-499, 1969

von Oettingen WF, Powell CC, Sharpless NE, Alford WS, Pecora LJ
Comparative studies on the toxicity and pharmacodynamic action of chlorinated methanes
Arch. Int. Pharmacodyn. 81, 17-34, 1950

von Oettingen WF
The halogenated hydrocarbons, toxicity and potential dangers
U. S. Public Health Serv., Nr. 414, 1955

von Oettingen WF
The halogenated hydrocarbons of industrial and toxicological importance
New York: Elsevier 1964

Packer JE, Slater TF, Willson RL
Reactions of the carbon tetrachloride-related peroxy free radical (CCl_3O_2) with amino acids: pulse radiolysis evidence
Life Sci., 23, 2617-2620, 1978

Paul BB, Rubinstein D
Metabolism of carbon tetrachloride and chloroform by the rat
J. Pharmacol. Exp. Therap. 141, 141-148, 1963

Peterson JE
Modeling the uptake, metabolism, and excretion of dichloromethane by man
Amer. Ind. Hyg. Assoc. J. 39, 41-47, 1978

Plaa GL, Witschi H
Chemicals, drugs and lipid peroxidation
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 16, 125-141, 1976

Pohl LR, Krishna G
A biochemical mechanism for chloroform activation
Fed. Proc. 36, 396, 1977

Pohl LR, Bhooshan B, Whittaker NF, Krishna G
Phosgene: A metabolite of chloroform
Biochem. Biophys. Res. Commun. 79, 684-691, 1977

Pohl LR, George JW, Martin JL, Krishna G
Phosgene: An in vivo metabolite of chloroform
Toxicol. Appl. Pharmacol. 48, 219, 1979

Rao KS, Recknagel RO
Early onset of lipoperoxidation in rat liver after carbon tetrachloride administration
Exp. Mol. Pathol. 9, 271-278, 1968

Ratney RS, Wegman DH, Hervey BE
In vivo conversion of methylene chloride to carbon monoxide
Arch. Environ. Health 28, 223-226, 1974

Recknagel RO, Lombardi B
Studies of biochemical changes in subcellular particles of rat liver and their relationship to a new hypothesis regarding the pathogenesis of carbon tetrachloride fat accumulation
J. Biol. Chem. 236, 564-569, 1961

Recknagel RO
Carbon tetrachloride hepatotoxicity
Pharmacol. Rev. 19, 145-208, 1967

Recknagel RO, Glende jr. EA
CCl_4 hepatotoxicity: an example of lethal cleavage
Crit. Rev. Toxicol. 2, 263-297, 1973

Reiner O, Uehleke H
Bindung von Tetrachlorkohlenstoff an reduziertes mikrosomales Cytochrome P-450 und an Häm
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 352, 1048-1052, 1971

Reiner O, Athanassopoulos S, Hellmer KH, Murray RE, Uehleke H
Bildung von $CHCl_3$ aus CCl_4 in Lebermikrosomen, Lipid-Peroxidation und Zerstörung von Cytochrom P-450
Arch. Toxikol. 29, 219-233, 1972

Renovanz KD
Doppelblindversuch mit zwei verschiedenen Bisolvon-Linctur^R -Formen
Therap. Woche 24, 4646-4650, 1974

Reynolds ES, Yee AG
Liver parenchymal cell injury. V. Relationship between patterns of chloromethane-C^{14} incorporation into constituents of liver in vivo and cellular injury
Lab. Invest. 16, 591-603, 1967

Reynolds ES, Yee AG
Liver parenchymal cell injury. VI. Significance of early glucose 6-phosphatase suppression and transient calcium influx following poisoning
Lab. Invest. 19, 273-281, 1968

Reynolds ES
Comparison of early injury to liver endoplasmatic reticulum by halomethanes, hexachloroethane, benzene, toluene, bromobenzene, methionine, thioacetamide and dimethyl nitrosamine
Biochem. Pharmacol. 21, 2555-2561, 1972

Riely Caroline A, Cohen G, Lieberman M
Ethane evolution: a new index of lipid peroxidation
Sience 183, 208-210, 1974

Rossoff IS
Handbook of veterinary drugs
New York: Springer Publishing Company 1974

Rubinstein D, Kanics L
The conversion of carbon tetrachloride and chloroform to carbon dioxide by rat liver homogenates
Canad. J. Biochem. 42, 1577-1585, 1964

Sachs L
Angewandte Statistik 5. Aufl.
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1978

Sagai M, Tappel AL
Lipid peroxidation induced by some halomethanes as measured by in vivo pentane production in the rat
Toxicol. Appl. Pharmacol. 49, 283-291, 1979

Saprin AN, Piette LH
Spin trapping and its application in the study of lipid peroxidation and free radical production with liver microsomes
Arch. Biochem. Biophys. 180, 480-492, 1977

Sasame HA, Castro JA, Gilette JR
Studies on the destruction of liver microsomal cytochrome P-450 by carbon tetrachloride administration
Biochem. Pharmacol. 17, 1759-1768, 1968

Schadow W
Untersuchungen zur pulmonalen Resorption und Elimination von Dichlormethandämpfen bei Mensch und Tier
Düsseldorf: Med. Diss. 1971

Schnitger F, Uehleke H
Der Einfluß von Dimethylnitrosamin, Tetrachlorkohlenstoff, Buttergelb und Cyclophosphamid auf den Aminosäureeinbau in Fraktionen von Leberhomogenaten nach metabolischer Aktivierung in vitro
Arch. Toxikol. 25, 169-182, 1969

Scholler KL
Modification of the effects of chloroform on the rat liver
Brit. J. Anaesth. 42, 603 - 605, 1970

Scholler KL
Verstärkung und Unterdrückung der Lebertoxizität von Chloroform durch Pharmaka
Anaesthesist 20, 149-150, 1971

Scholz MC, Recknagel RO
Rapid increase of rat liver triglycerides following carbon tetrachloride poisoning
Biochem. Biophys. Acta 41, 151-152, 1960

Seawright AA, McLean AEM
The effect of diet on carbon tetrachloride metabolism
Biochem. J. 105, 1055-1060, 1967

Siess M, Schmidt B, Oehming HA, Kirschner E
Vergleichende Untersuchungen über narkotische Wirkung und Toxizität von Halothan und Chloroform bei der Maus
Bruns Beitr. Klin. Chir. 206, 461-482, 1963

Slater TF
Necrogenic action of carbon tetrachloride in the rat: a speculative mechanism based on activation
Nature 209, 36-40, 1966

Slater TF, Sawyer BC
The hepatotoxic action of carbon tetrachloride. Stimulatory effect of carbon tetrachloride on lipid peroxidation in microsomal suspensions
FEBS Letters 11, 132-136, 1970

Slater TF, Sawyer BC
The stimulatory effects of carbon tetrachloride and other halogenoalkanes on peroxidative reactions in rat liver fractions in vitro
Biochem. J. 123, 805-814, 1971a

Slater TF, Sawyer BC
The stimulatory effects of carbon tetrachloride on peroxidative reactions in rat liver fractions in vitro. Interaction sites in the endoplasmatic reticulum
Biochem. J. 123, 815-821, 1971b

Slater TF
Free radical mechanisms in tissue injury
London: Pion 1972

Smith WW
The acute and chronic toxicity of methyl chloride
J. Industr. Hyg. 29, 185-189, 1947

Smith AA, Volpitto PP, Granling ZW, de Vore MB, Glassmann AB
Chloroform, halothane and regional anaesthesia: a comparative study
Anesth. Analg. 52, 1-11, 1973

Smuckler EA, Arrhenius E, Hultin E
Alterations in microsomal electron transport, oxidative N-demethylation and azo-dye cleavage in carbon tetrachloride and dimethylnitrosamine-induced liver injury
Biochem. J. 103, 55-64, 1967

Smuckler EA
Structural and functional alteration of the endoplasmatic reticulum during CCl_4 intoxication
Fed. Europ. Biochem. Soc.
London-New York: Academic Press 1968

Snow J
On chloroform and other anaesthetics
London: J. Churchill 1858

Sperling F, Macri FJ, von Oettingen WF
Distribution and excretion of intravenously administered methyl chloride
Arch. Industr. Hyg. 1, 215-224, 1950

Soucek B
Retention und Ausscheidung von Methylchlorid und Tetrachlorkohlenstoff bei Ratten
Arch. Gewerbepath. 18, 370-383, 1961

Stacey N
Dose-dependent toxicity of CCl_4 in isolated rat hepatocytes and the effects of hepatoprotective treatments
Toxicol. Appl. Pharmacol. 45, 29-39, 1978

Stacey NH, Priestly BG, Hall RC
Toxicity of halogenated volatil anesthetics in isolated rat hepatocytes
Anesthesiology 48, 17-22, 1978

Steinmetzer K
Pharmakologie für Tierärzte einschließlich Verordnungslehre
Wien: Urban und Schwarzenberg 1949

Stewart RD, Dodd HC
Absorption of carbon tetrachloride, trichloroethylene, tetrachloroethylene, methylene chloride, and 1,1,1-trichloroethane through the human skin
Amer. Ind. Hyg. Assoc. J. 25, 439-446, 1964

Stewart RD, Fisher TN, Hosko MJ, Petersen JE, Baretta ED, Dodd HC
Carboxyhemoglobin elevation after exposure to dichloromethane
Science 176, 295-296, 1972

Thorpe E, Gopinath C, Jones RS, Ford EJH
The effect of chloroform on the liver and the activity of serum enzymes in the horse
J. Pathol. 97, 241-251, 1969

Uehleke H, Schnitger F, Hellmer KH
Verhalten verschiedener microsomaler Fremdstoff-Oxidationen nach Inaktivierung von Cytochrom P-450 durch UV-Bestrahlung oder durch Desoxycholatbehandlung
Hoppe-Seyler's Z. Physio. Chem. 351, 1475-1484, 1970

Uehleke H, Werner TH
A comparative study on the irreversible binding of labeled halothane, trichlorofluoromethane, chloroform, and carbon tetrachloride to hepatic protein and lipids in vitro and in vivo
Arch. Toxicol. 34, 289-208, 1975

Uehleke H
Zur Toxikologie von Chloroform
Bundesgesundhbl. 21, 310 - 317, 1978

Ugazio G, Burdino E, Danni I, Milillo E
Hepatotoxicity and lethality of halogenoalkanes
Biochem. Soc. Trans. 1, 968-972, 1973

Ullrich V, Schnabel KH
Formation and binding of carbanions by cytochrome P-450 of liver microsomes
Drug Metab. Dispos. 1, 176-183, 1973

DiVincenzo GD, Yanno FJ, Astill BD
Human and canine exposure to methylene chloride vapor
Amer. Ind. Hyg. Assoc. J. 33, 125-135, 1972

DiVincenzo GD, Hamilton ML
Fate and disposition of (^{14}C) methylene chloride in the rat
Toxicol. Appl. Pharmacol. 32, 385-393, 1975

Windholz Martha, Budavari Susan, Stroumtsos Lorraine Y, Noether Fertig Margareth
The Merck Index, 9th Ed.
Rahway (USA): Merck & Co. 1976

Wirtschafter ZT, Cronyn MW
Free radical mechanism for solvent toxicity
Arch. Environ. Health 9, 186-191, 1964

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. A. Schmid für die Überlassung des Themas, sowie für seine wissenschaftliche Anleitung und seine stets freundlich gewährte Unterstützung bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit.

Außerdem danke ich Frau Barbara Ferlings und Frau Maria Kußmaul, die mir bei der Ausarbeitung wertvolle Hilfe leisteten.

LEBENSLAUF

Geburtstag:	28.4.1953
Geburtsort:	Landshut
Eltern:	Paula Jungbauer, geb. Rahm Wolfgang Jungbauer, Kaufmann
Schulausbildung:	1959-1963 Volksschule Seligenthal in Landshut, 1963-1972 Gymnasium Seligenthal in Landshut, 1972 Abitur
Studium:	im Sommersemester 1973 Studium der Agrarwissenschaften an der Technischen Universität Weihenstephan-München, ab Wintersemester 1973/74 Studium der Veterinärmedizin am Fachbereich Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München
Staatsexamen:	1978 in München
Approbation:	1978
Familienstand:	seit 1980 verheiratet mit dem Rechtsanwalt Hans-Dieter Wurster